

微生物育種

125

フロック形成菌へのTOLプラスミッドの伝達

(東大応微研, 東大農化) ○多胡 義孝, 大石 邦夫, 矢野 圭司, 相田 浩

1. 目的 近年、めざましい石油化学工業の発展に伴い、毒性の高い種々の炭化水素系物質が自然環境に放出されてきた。これらの物質が放出されてきた河、湖、等々から、これらを全分解又は一部分解する遺伝子をプラスミッドとしてもつ菌(主に *Pseudomonas* 等)が分離され、その分解系酵素群、遺伝子群が詳細に研究されてきている(Table 参照)。表にみ

Plasmid	Degradative pathway	Transmissibility
pKJ1	Xylene/Toluene	+
CAM	Camphor	+
OCT	n-Octane	-
SAL	Salicylate	+
NAH	Naphthalene	+
TOL	Xylene/Toluene	+
XYL-K	Xylene/Toluene	+
NIC	Nicotine/Nicotinate	+
pJP1	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid	+
pAC21	p-Chlorobiphenyl	+
pAC25	3-chlorobenzoate	+

られるようにほとんどの分解系プラスミッドが伝達可能なプラスミッドである。

我々はこの分解系プラスミッドをより有効に自然浄化に利用できないかと考え、一般に広く使われている活性汚泥法にこの分解能を付与することを考えた。単純にこれら分解能をもつ菌を活性汚泥中に入れてやるよりはフロック形成能をもつ菌に分解能を付与した後この分解能をもったフロック形成菌を活性汚泥中に入れてやる方が wash out の可能性も減ずると思われる。我々はすでに極めて良好にフロックを形成する菌を分離し、そのフロック形成機構を明らかにしてきたが、今

回はこのフロック形成菌に xylene/Toluene 分解系の TOL プラスミッドを伝達することを試みた。

2. 方法及び結果、使用菌株は受容菌としてフロック形成菌 *Pseudomonas* sp. no.12, 共与菌として *Pseudomonas putida* mt-2 由来の RY6(ben⁺, trp⁺, leu⁺, str^r)/TOL を使用し、フロックは十分純水にて洗浄後、deflocculating enzyme で処理しバラバラな遊離菌とした後、共与菌と混合し、tryptone-yeast extract-NaCl-glucose (L broth) 中 30°C 2 hr 静置後 m-toluate を単一の炭素源とする無機培地に plate out した。受容菌はこの無機培地で succinate, glycerol を単一の炭素源として生育できるが m-toluate では生育できない。又共与菌は trp, leu を加えなければこの無機培地では生育できない。この選択培地に生じたコロニーを液体培地に移したところ、フロックを形成した。又このフロックは deflocculating enzyme で崩壊しバラバラな遊離菌となった。以上のことから m-toluate を単一の炭素源として生育できるフロック形成菌が得られたと考えられる。なおこの菌より TOL プラスミッドの分離、TOL プラスミッドの発現の強さ、安定性等々現在検討中である。