

601

植物病原菌 *Erwinia* のプラスミドの非自己接合伝達に關与する遺伝子

(広島大・工・臨研) 野村暢彦, 白 昇 英, 室岡義勝

1) 目的 プラスミドの異種間伝達機構の解明を目的として植物病原菌である *Erwinia* 属より分離した非自己伝達性プラスミドが持つ接合伝達に關与する *oriT* 及び *mob* 遺伝子の構造解析を行った。

2) 方法及び結果 *Erwinia* より分離したプラスミド pEC3 は自己伝達性はないが, RP4 等のヘルパープラスミドにより接合伝達が可能となる事から, 可動化に必要な *mob* 遺伝子及びその遺伝子産物により認識される移行開始部位 (*oriT*) の存在が予測された。そこで, pEC3 を pBR328 に subcloning 及び欠失により移行に必要な必須領域を検討したところ, pEC3 の *AatII* から *BglII* までの約 1.9Kb の断片を持つ pBA1 が得られた。この組み換えプラスミドは広宿主プラスミド pRK2013 をヘルパーとし, *E. carotovora* を recipient にした場合 $10^{-3} \sim 10^{-4}$ の頻度で *E. coli* C600 から接合伝達された。よって, この断片中に *mob* 遺伝子及び *oriT* が存在すると思われる。なお pBR328 の複製開始点 (*oriV*) 断片を probe にして *AatII* ~ *BglII* 断片と Southern hybridization したところ, 強い signal があつたので, pBR328 の *oriV* 部位を欠失させさらに *AatII* ~ *BglII* 断片を連結した。このものを *E. coli* C600 を宿主として形質伝換を行ったところ薬剤耐性形質伝換体を得られた。すなわち, pBR328 ベクターの *oriV* が欠失しているにもかかわらず複製が行われるので, *AatII* ~ *BglII* 断片中に *mob* 遺伝子と *oriT* の他にさらに *oriV* も存在している事が予測される。そこで, *AatII* ~ *BglII* 断片を dideoxy 法を用いて塩基配列を決定した。

602

放線菌プラスミド pSN22 の伝達に關与する遺伝子の塩基配列

(阪大・工・ICBiotech, *台糖*) 片岡正和, ○三浦由佳*, 久野範人, 関達治, 吉田敏臣

目的) 我々は *Streptomyces niglifaciens* より分離したプラスミド pSN22 のベクター化, 複製機構および接合伝達能について報告してきた。本報告では接合伝達能に關与する遺伝子群の内, ボックス形成に必須な *TraA*, および *Tra* 遺伝子群を制御していると考えられる *TraR* の塩基配列を決定し, 既に報告されている pIJ101 との比較を行なった。

方法) DNA の塩基配列の決定には M13, あるいは pBluescript を用いた dideoxy 法によって行なった。DNA の塩基配列および予想されるタンパク質一次構造の解析には GENETYX 解析システムを, ORF の解析には GC 含量を利用した当研究室のプログラム (PCP) を利用した。プロモーター部位に解析にはプロモータープローブベクター pARCI を, ORF の確認は pRIT2T を用いてプロテイン A との融合タンパクを作製することによって行なった。

結果) 接合伝達に必須な領域の内, プラスミド關与の致死現象に關連する約 1.5 kbp の領域について塩基配列を決定し, PCP で処理後, ORF の検索を行なった。さらに, 遺伝学な知見と照合したところ *TraR* と考えられる遺伝子の一部, および *TraA* と考えられる ORF が推定された。これらの ORF と推定される DNA 断片を pRIT2T にクローニングし, *E. coli* 中で過剰発現させたところ, 予想される分子量の融合タンパク質が確認できた。また, pSN22 は複製必須領域および *rep* タンパク質をコードすると考えられる領域において pIJ101 と非常に高い相同性を持つが, 両者の *Tra* 領域では, DNA およびアミノ酸配列ともに類似性を認めなかった。

DNA Sequence of the *tra* genes for conjugative transfer of *Streptomyces* plasmid, pSN22

M. Kataoka, *Y. Miura, N. Kuno, T. Seki and T. Yoshida

ICBiotech, Faculty of Engineering, Osaka Univ., *Taito Co.