

C-46

根圏細菌 *Pseudomonas putida* から得られた細胞凝集変異株
CI-1 の特性—第 2 報—かわぐち あきら さかい まさお かなざわ しんじろう
○川口 章・境 雅夫・金澤晋二郎

九州大学大学院農学研究院土壌微生物学研究室

【目的】

過剰施肥により生じる土壌への塩類集積は、蛍光性シュードモナスの植物根圏への定着に対して、阻害的に作用することをこれまでに明らかにした。現在、このような阻害を受ける蛍光性シュードモナスの特性を明らかにするため、塩類集積土壌から分離した *P. putida* より、Transposon mutagenesis により数種の変異株を作出して解析を進めている。その一つである変異株 CI-1 は、 Ca^{2+} などの 2 価カチオンによって細胞同士が接着した凝集体を形成し、その走化性が著しく阻害される。塩類集積土壌中でも、この凝集体形成が生じ、CI-1 の根圏定着を著しく低下させることを明らかにしている。

本報では、このような CI-1 の Ca^{2+} による凝集体形成と遺伝子変異との関連性を明らかにするため、Transposon mutagenesis により変異した遺伝子、及びその周辺遺伝子の解析を行った。

【方法及び結果】

Transposon が挿入された遺伝子を含む約 4.6kb の DNA 断片の塩基配列を決定した結果、下図に示す 5 つの ORF の存在が明らかとなった。これらの ORF のホモロジー検索を行った結果、Transposon が挿入された遺伝子 *orf2* は *Escherichia coli* の periplasmic putrescine-binding protein (PotF) と 72% の相同性を示した。また、*orf2* より下流に位置する遺伝子群のうち、*orf3* は *P. aeruginosa* の probable oxidoreductase protein (OrdL) と 80%、*orf4* は *E. coli* の Lipoprotein precursor と 51% の相同性を示した。Lipoprotein はその代表的な機能として、グラム陰性細菌の細胞壁構造においてペプチドグリカン（ムレイン）層と外膜とを架橋する機能があることがわかっている。よって CI-1 の表現型には、この Lipoprotein の有無がもたらす細胞壁構造の変化が関与している可能性も考えられる。

次に、RT-PCR を用いて *orf2-orf3-orf4* が同一オペロンとして転写されているかどうかを調べた。それぞれの遺伝子の境界をはさんで増幅するようなプライマーを設計し、野生株から抽出した全 RNA を鋳型にして RT-PCR を行った。その結果、*orf2-orf3-orf4* は同一オペロン上にあると推察された。

