

好熱菌由来の広宿主域遺伝子伝達粒子による 中温細菌の耐熱性獲得について

いなば なおこ ほあきと しひろ くるす やすろう たかはし かえ ちうら ひろし
○稲葉 直子¹, 帆秋 利洋², 久留主 泰朗³, 高橋 可江¹ 千浦 博¹

¹ICU. NS. Biol; ²大成建設 土木研究所; ³茨城大学 農学部

目的 演者らは電子顕微鏡観察により海底熱水や陸上温泉水等の水圏からも、普遍的に見出されるウイルス様粒子 (virus-like particle, VLP) の中に、広宿主域な未知の遺伝子伝達粒子 (仮に VP) が存在する可能性が高いことを指摘してきた (Chiura 1997, Chiura et al 2000, Chiura et al 2002, Chiura 2002). これら"VP"の自然生態系での微生物群集に対する遺伝子伝播能力がどの程度であるかを知るために、地下掘削孔や深海高温環境から得られた VLP を大腸菌に対し形質導入して得た形質導入株の高温耐性獲得について検討した.

材料・方法 供試試料は 2000 年の豊羽鉱山: A site 噴出熱水 (TY-VLP), 並びに 2001 年水曜海山熱水系調査での APSK 06 掘削コアから得た *Thermococcus kodakaraesis* B41 株が生産した粒子 (KD-VLP) を 0.2 μ g 試料 > 100 kDa 画分として CsCl 平衡密度勾配超遠心法により精製しアミノ酸要求性大腸菌突然変異株 (*E. coli* AB1157) を受容菌として形質導入実験に供した. 得られた形質導入株の 48, 56, 70 °C での経時的生育状況を顕微鏡的に観察すると共に、固体培養基上での Colony 形成能を検討した. また、*Aquificales* 由来の同様の粒子で得た *E. coli* 形質導入株が再生産した粒子 (STVP) による形質導入株 (STetrans) について同様の検定を行った.

結果・考察 各々の粒子は、紫外線処理の如何に拘らず受容菌群集密度を 70-50% とする平板効率が得られた. アミノ酸標識の形質導入効率は略 10^4 - 10^5 CFU/particle (多重感染度 *ca* 0.1) であった. 受容菌 *E. coli* AB1157 は、何れの温度条件下でも 48 時間以内に略壊滅したのに対し、何れの形質導入株でも同様の期間で初発細胞密度の *ca* 0.4%程度となり、48°C では以降生育に転じ、70 °C でも初発細胞密度の *ca* 0.5% が生育可能で世代時間は *ca* 45 時間であった. このように、形質導入株の一部は耐熱・好熱遺伝子の形質導入が行われ高温で増殖できる sub-population を生じた.

猶、本研究は文部科学省 Archaean Park Project の一環として実施した.

Corresponding author: Chiura, HX, chiura@icu.ac.jp

Chiura. HX, Aquatic Microbial Ecology. 13:75-83, 1997.

Chiura, HX, et al. Microbial Biosystems: New Frontiers. Atlantic Can Soc Microb Ecol, Halifax, Canada, pp 167-173, 2000.

Chiura. HX, et al. Microb. Environ. 17:48-52, 2002.

Chiura. HX, Microb. Environ. 17:53-58, 2002.