

B-02

VP 形質導入株に特異的な核酸種について

○伊東^{いとう} 勸介^{かんすけ}, 千浦^{ちうら} 博^{ひろし}

ICU. NS. Biol

【目的】千浦らは自然環境に豊富且つ普遍的に存在するウイルス様粒子群集中に系統的に懸け離れた微生物群集に対する水平遺伝子伝達能を保持する集団の存在を見出し、この広宿主域遺伝子伝達粒子 (VP) についての微生物群集の進化及び遺伝的多様性の構築への寄与を検討し続けてきた. VP の感染により得られる形質導入株は同様の粒子を再生産し、更に元の粒子同様の遺伝子伝達能を保持する. 即ち、形質導入株には粒子生産を担う遺伝子が伝達されると考え得るが、該遺伝子の特定には至っていない. 本研究では *Aquifex* 由来の VP を大腸菌 AB1157 株に感染させて得た形質導入株 (ST-E-trans), 及び再生産された粒子 (STEVP) を感染させて得た形質導入大腸菌 DH5 α 株 (DH-lac-trans), 並びにこれらの受容菌元株についての増殖段階に対応した核酸分子種の異同を検討した.

【方法】供試株 (ST-E-trans, DH-lac-trans, *E. coli* AB1157, *E. coli* DH5 α) を Luria-Bertani medium に接種, 30°C で振盪培養し対数増殖期中期 ($\sim 4 \times 10^8$ cell/ml), 定常期 ($\sim 2 \times 10^9$ cell/ml) に達した供試菌培養液から細菌細胞を遠心 (8000 $\times g$, 40min), 回収後 30%–100% methanol series 処理で脱脂し, 逆 methanol series で水和後, 得られた菌体を 0.4% Agarose gel 中に包埋し *in situ* lysis 法で核酸抽出ならびに蛋白質除去を行った. EDTA, SDS 存在下に RNase A, lysozyme 処理 (37°C, 18h) 後, EDTA 存在下で achromopeptidase 処理 (55°C, 24h) を 2 回, さらに EDTA, SDS 存在下で Proteinase K 処理 (55°C, 24h) を 2 度繰り返して核酸標品を得た. この核酸画分の電気泳動を行い核酸分子種の異同を検討した.

【結果・考察】電気泳動の結果 DH-lac-trans の核酸画分からは受容菌元株の DH5 α の核酸画分には出現しない *ca* 9kbp の核酸分子種が検出された. ST-E-trans の VP 生産は定常期以降から生産される (chiura 2002), これからも示唆されていたように対数増殖期中期の ST-E-trans 株からは特異的な核酸分子種は検出されなかった. しかし DH5 α 株は *relA-1* 遺伝子に変異があり対数増殖期中期 DH-lac-trans から特異的な分子種が確認されたことから対数増殖期中期からの VP 関連遺伝子の発現が示唆された.

Corresponding author: 千浦 博, chiura@icu.ac.jp