

ゲノム情報を利用した接合伝達エレメント (ICE) の機能解析

別府大学大学院 食物栄養科学研究科 食物栄養学専攻 修士課程

M1421002

小石 早希

[目的] 本研究室保有のビフェニル分解菌群はビフェニル分解 (*bph*) 遺伝子群及びサリチル酸分解 (*sal*) 遺伝子群を有し、これらの発現によりビフェニルおよびサリチル酸を分解していることが既に明らかとなっている。*Pseudomonas putida* KF715 株は接合伝達により容易に他菌株にその *bph*、*sal* 遺伝子群を転移することが明らかとなっており、我々はこの遺伝子群の可動化因子を *bph-sal* エレメントと名付けた。一方で、KF715 株を栄養培地で継代培養すると容易にビフェニル分解能が欠失した株 (KF715Δ*bph* 株) が出現する。このように、KF715 株の *bph-sal* エレメントはきわめて不安定なエレメントであるが、これまでにその詳細な可動化・欠失メカニズムについてはなんら明らかとなっておらず、不明な点が多く存在する。そこで本研究では、ゲノム情報をもとにしたインシリコ解析および、インビトロ解析により、*bph-sal* エレメントの不安定さや再編成に関わる遺伝子群探索を行うことで、微生物の水平伝播による適応進化や遺伝子の欠失や再編成による退化現象のメカニズムをあきらかとすることを目的とした。

[方法と結果] NITE の協力によりビフェニル分解菌、11 菌株のゲノム解析が実施された。RAST サーバーを用いた各ビフェニル分解菌の比較ゲノム解析の結果、*bph*、*sal* 遺伝子群の他に安息香酸遺伝子 (*bza*) や、多くの mobile element protein、integrase 遺伝子等を含む領域が高く保存されていることが明らかとなった。

一方 KF715 株 *bph* 遺伝子群欠失 (KF715Δ*bph*-1) 株を RAST サーバーと GenomeMatcher、GENETYX を用いた比較ゲノム解析の結果、複数の欠失領域が検出された。このうち、*bph* 遺伝子群が存在する KF715 株のプラスミド (pKF715A) では *bph* 遺伝子群を含む領域の他に、転移に関する遺伝子が多く存在する領域が欠失していることが明らかとなった。

そこで、*bph* 遺伝子群の欠失現象についての詳細を解析するために、継代培養により新たにビフェニル分解能欠失株を取得した。本菌株と、KF715 野生株、KF715Δ*bph*-1 株を用いたサザン解析により pKF715A の内部構造を比較解析した。その結果、*bph* 遺伝子群の欠失はほぼ同じ領域が欠失するが、もう一つの欠失領域は継代培養により容易に欠失しないことが明らかとなった。

これらの結果から、KF715 株の有する *bph-sal* 遺伝子群は、pKF715A という接合伝達性プラスミドを介し水平伝播し、*bph* 遺伝子群は継代培養により欠失しやすい極めて不安定なエレメントであるということが明らかとなった。

今後はこの遺伝子群の欠失により生じた領域がプラスミドであるか、染色体上に組み込まれているのかを解析することを望む。