

II-395 各種水環境における微生物の接合による プラスミドの伝達に関する研究

東北学院大学工学部 ○ 正員 遠藤 銀朗
三機工業(株) 正員 小関 多賀美

1. はじめに

近年、環境浄化や廃水処理を目的として遺伝子組換え微生物の活用が検討されるようになってきている。この際に考慮しなければならない事項として、組換え微生物の環境中での挙動を明らかにすることと同時に意図的に組換えた遺伝子そのものの挙動を明らかにすることを上げることができる。環境中においては、微生物親子間の遺伝子情報の伝達だけではなく、微生物個体間の遺伝子情報の伝達(水平伝達)も同時に生じうる。このような遺伝子の水平伝達は、人為起源汚染物質の分解浄化能力の獲得や環境適応(馴化)等における重要な機作であると同時に、必要以上の遺伝子の伝播による弊害をもたらすことも考えられる。

本研究においては、微生物間のこのような遺伝子の水平伝達のうちで、最も高頻度で伝達を行なわせしめると考えられる接合による遺伝子の伝達を実際の環境水中で評価する方法を開発したと同時に、接合伝達率がどのような環境因子によって変化するかについて実験を行ない調査した。

2. 実験材料および方法

○実験材料

- ・接合伝達菌株：(遺伝子供与菌) E.coli C600 (RP4)
(遺伝子受容菌) E.coli HB101
E.coli C600 (pBH500)
(コントロール) E.coli C600 (pBR325)
※カッコ内はプラスミド
- ・試料水：多摩川上流部(拝島橋)・下流部(丸子橋)
手賀沼、霞ヶ浦、東京湾中央部・奥部
- ・透析チューブ：透析用セルロースチューブ(直径16mm
:VISKASE社製)を2% NaHCO₃と1mM EDTA
で煮沸処理。

○実験方法

《in vitro内での接合伝達実験》

遺伝子供与菌と受容菌の割合を変えて接合伝達率を調べた。また、温度ごとによる接合伝達率の変化を調べた。

《各種環境水中での接合伝達実験》

遺伝子供与菌と受容菌の培養液を生理食塩水で洗浄し、培地を取り除く。両菌を透析チューブに入れ、これを温度が異なる各環境水100mℓの系に投入する。48時間後の接合伝達率を調べた。また、ネガティブコントロール

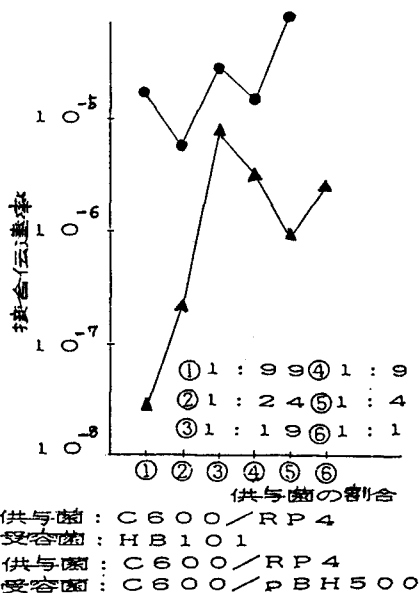


図-1 供与菌と受容菌の比率変化による接合伝達率

としてE. coli C600 (pBR325) と受容菌の接合伝達実験を行った。

3. 実験結果

《in vitro内の接合伝達実験》

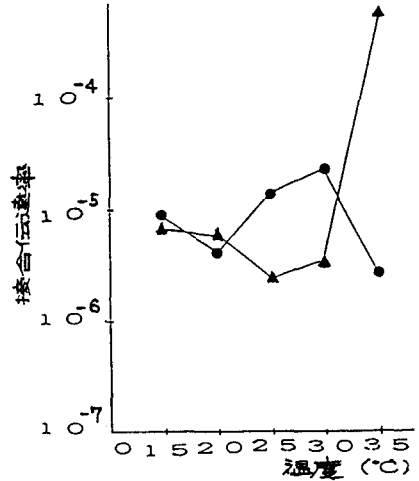
C600 (RP4) とHB101 の組み合わせでは、供与菌と受容菌の比率が2:8 で温度が30℃の時、C600 (RP4) とC600 (pBH500) の組み合わせでは、1:19の比率で35℃のときに伝達率が良くなった。（図-1, 2）

《各種環境水中での接合伝達実験》

多摩川上流部および下流部水中では、どちらの菌の組み合わせでも温度の上昇に伴い伝達率が上昇した。（図-3 A, B）一方、海水や手賀沼・霞ヶ浦の試料水を使った実験では、大腸菌間の遺伝子の伝達がほとんど見られなかった。また、ネガティブコントロールの実験系では、接合伝達がまったく行われなかった。

4. 結論

- ① in vitro 内での各細菌の接合伝達率は、プラスミドが同じでも細菌の組み合わせによって伝達率が異なる事が知れた。
- ② 各種環境水を使用して伝達率を調査した結果、菌の成長に適していると思われる多摩川の下流部水が最も伝達率が高く、上流部では比較的低かった。
- ③ 本研究においてなされた透析チューブを使用する接合伝達実験方法の有効性が知れた。



● 供与菌: C600/RP4
● 受容菌: HB101
▲ 供与菌: C600/RP4
▲ 受容菌: C600/pBH500
図-2 温度による接合伝達率の変化

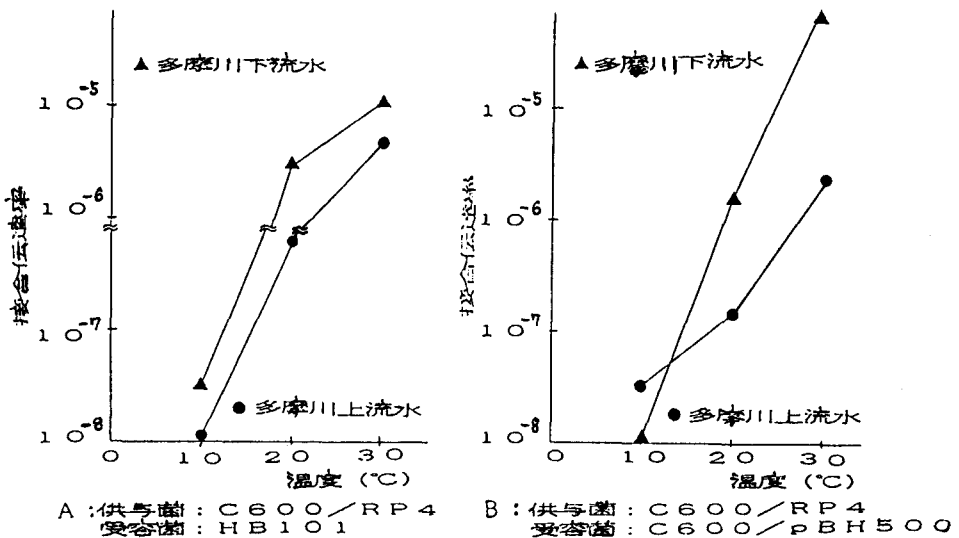


図-3 多摩川上流および下流水中での温度変化による接合伝達率変化