

Ⅱ-107 各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 学生員 ○小関 多賀美

同上 生 員 遠藤 銀朗

同上 生 員 長谷川 信夫

1. 実験の目的

近年、環境浄化や排水処理を目的として、遺伝子組換え微生物の活用が種々検討されているが、自然環境においては、生物親子間の遺伝子情報の伝達だけではなく、生物個体間の遺伝子情報の伝達（水平伝達）がなされており、これが環境生態系の持つ特長に変化を与えていると考えられる。水系生態系においては遺伝子情報の水平伝達は、人為起源限汚染物質の分解浄化能力の獲得や、環境要因の変化に対応して馴化するための重要なメカニズムのひとつとして機能していると考えられる。しかし、このような遺伝子情報の水平伝達が環境生態系の中でどのようになされているかに関する科学的情報は不足しており、その全容はほとんど知られていない。

本研究では、このような遺伝子の水平伝達のうちでも、最も伝達率が高いと思われる、微生物間の接合によるプラスミド遺伝子の伝達の知見を得るために、接合伝達について、さまざまな環境水での伝達を試みるとともに、その実験方法についても検討を行った。

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。

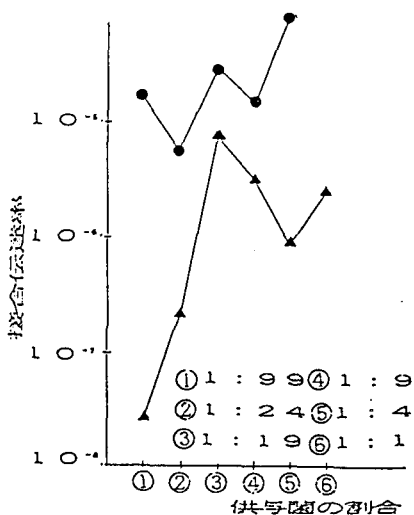
○実験方法

《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



● 供与菌：C600/RP4
受容菌：HB101
▲ 供与菌：C600/RP4
受容菌：C600/pBH500

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られた。
- 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。

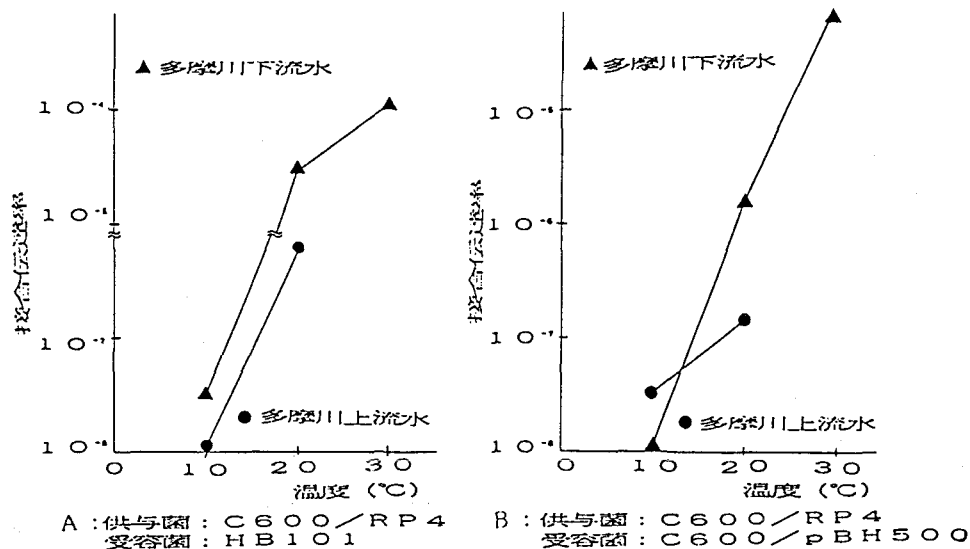
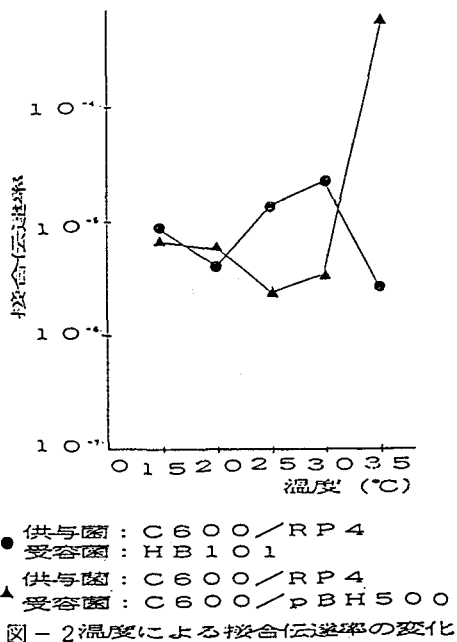


図-3 多摩川上流および下流水中での温度変化による接合伝達率変化