

27P-am010

海洋メタゲノムライブラリの作成と薬剤耐性を指標にした新規生理活性物質生合成遺伝子の探索

○藤田 雅紀¹, 酒井 敦司², 市川 洋一², 大塚 雅巳²(¹熊本大院先導機構, ²熊本大院薬)

【目的】 メタゲノム法は、環境中微生物を分離培養することなく直接ゲノムライブラリを作成し解析する手法である。本手法により、99%以上といわれる培養困難な微生物の遺伝子資源の利用が可能になると期待されている。

そこで、様々な微生物が存在する干潟からメタゲノムライブラリを作成し、生理活性物質の生合成遺伝子クラスターに含まれる、薬剤耐性遺伝子を指標にスクリーニングを行い、新規生理活性物質の生合成遺伝子の取得を試みた。

【方法】 有明・八代海の干潟泥をサンプルとして採集後、直接ゲノム DNA を抽出し、プラスミドベクターを用いてメタゲノムライブラリを作成した。一般的な分子生物学用の抗生物質を含む培地でスクリーニングを行い、耐性を獲得したクローンを取得し、その内部配列を決定した。

【結果と考察】 これまでに作成した約 24000 クローンのライブラリから、カナマイシン耐性を獲得したクローンを 30 以上得た。制限酵素による切断パターンから、ユニークと考えられた 8 クローンについて、その内部配列を決定した。

その結果、多くの生理活性物質の生合成遺伝子クラスターに含まれる、多剤耐性トランスポーターを持つものが見出される一方、グリコシダーゼのような分解酵素を耐性遺伝子として持つものも見出された。

さらに、そのうちの一部には上流および下流域に生理活性物質の生合成遺伝子クラスターと推測される配列が存在しており、耐性遺伝子を指標とした未知遺伝子クラスター探索の実現可能性を示す事ができた。