

21PO-am275

水銀耐性菌 *Pseudomonas* K-62 株由来 pMR68 上の新規遺伝子の機能解析

○曾根 有香¹, 常盤 修平¹, 山岡 千容¹, 浦口 晋平¹, 中村 亮介¹, 高根沢 康一¹, 清野 正子¹ (北里大薬)

【目的】近年我々は、*Pseudomonas* K-62 株由来 pMR68 上の新規遺伝子 *orf5* が無機水銀及びフェニル水銀輸送に関与する可能性を見出した。*orf5* 遺伝子産物(Orf5)はその一次構造から水銀結合タンパク質 MerP と類似すると予測されたが、発現部位や生化学的機能は不明であった。そこで本研究では、Orf5 の発現及び無機水銀(Hg), カドミウム(Cd), 亜ヒ酸(As), クロム酸(Cr)への反応性について検討した。

【方法】水銀調節遺伝子(*merR-o/p*)の下流に *orf5-his6* または *merP-his6* を組換えた Orf5-His₆株または MerP-His₆株を用いて、水銀による発現誘導条件下で NaN₃ (0, 0.3, 1, 3 mM)を添加し培養した菌液の粗抽出画分を Western Blot した。次に pKF19k vector に *merR-o/p-orf5* を組換えた大腸菌(Orf5 株)に HgCl₂, CdCl₂, NaAsO₂, CrO₃ をそれぞれ反応させ、各菌株の Hg 濃度は還元気化原子吸光光度法により、Cd, As 及び Cr 濃度は誘導結合プラズマ発光分光分析法により測定した。

【結果および考察】Western Blot の結果、MerP-His₆ 株では前駆体型及び分泌型 MerP のバンドが検出され、NaN₃ 濃度依存的に分泌型 MerP の割合が減少した。一方 Orf5-His₆ 株では 15 kDa 付近にバンドが検出され、NaN₃ の影響を受けなかった。このことから、Orf5 は一回膜貫通型の膜タンパク質であり、細胞間隙に局在する MerP と局在が異なることが示唆された。次に元素反応性を検討したところ、Orf5 株の Hg, Cd 及び As 濃度はコントロール株に比べ有意に高かった。一方、それらの Cr 濃度はコントロール株とほぼ同等であった。これらの結果から、Orf5 は Hg, Cd 及び As と反応する膜タンパク質であることが示唆された。本研究から *orf5* 遺伝子産物は多様な有害元素反応性を示すことが明らかになった。今後は、Orf5 と水銀トランスポーター MerC, MerE, MerF, MerT の機能比較をする予定である。