

メタゲノム由来ブレオマイシン耐性遺伝子の *Thermus* における発現
Expression of a Metagenomic Bleomycin Resistance Gene in *Thermus thermophilus*

小山芳典、末永 光、森 智夫、宮崎健太郎

Yoshinori Koyama, Hikaru Suenaga, Toshio Mori, Kentaro Miyazaki

(産総研 生物機能工学)

(Institute for Biological Resources and Functions, AIST.)

e-mail: y-koyama@aist.go.jp

薬剤耐性遺伝子は遺伝子操作を行う上でもっとも重要なツールですが、大腸菌等で使われている薬剤耐性遺伝子は耐熱性が低いため *Thermus thermophilus* の生育至適温度である摂氏 70～75 度では使うことができず、*T. thermophilus* の遺伝解析を行う上で大きな障害になっていました。1999 年に竇関らは常温菌である *Staphylococcus aureus* 由来のカナマイシン耐性マーカーを DNA シャフリングと *T. thermophilus* の遺伝子操作系による選択系を組み合わせることで変異を導入し、摂氏 81 度まで使えるように改良しました[1]。また小山も同様の方法により大腸菌由来のハイグロマイシン耐性遺伝子を摂氏 82 度まで使えるように改良しました。2005 年には Brouns さんも放線菌由来のブレオマイシン耐性マーカーの耐熱化を報告しています[2]。今回は我々は *Thermus* 菌において 60℃で利用できるブレオマイシン耐性遺伝子をメタゲノムより分離しましたので報告します。

研究者はこれまで長い間有用な遺伝子を探すため、微生物を培養し、スクリーニングを行ってきました。しかし近年の微生物生態学の研究から環境中に生育する微生物のほとんど (99%以上) は実験室において培養できないことがわかってきました。すなわち、これまで多くの研究者が行ってきたスクリーニングでは、微生物遺伝子資源の 1%以下しか探索できていなかったわけです。そこでこのような問題を解決するために、微生物を培養せず、環境から直接 DNA を抽出し、有用な遺伝子を探るメタゲノムの手法が開発されました。

これまでに我々は、コークス炉ガス洗浄廃液処理活性汚泥から DNA を抽出し、フォスミドライブラリを作成し、高効率にライブラリをスクリーニングできるロボットシステムを開発して、芳香族化合物分解に関わる各種酵素遺伝子を分離してきました。今回はこのシステムを用いて、ゼオシン (ブレオマイシン系抗生物質の一種) に耐性を示すクローンから新規なブレオマイシン耐性遺伝子を分離することに成功しました。

そしてその一つを *Thermus* 菌用発現ベクター pYK141 に組み込んで *T.thermophilus* HB27 に導入したところ、変異を導入していない野生型のままでも 60℃でゼオシン耐性を発現しました。このことは *Thermus* 菌で利用できる新たな薬剤耐性マーカーをスクリーニングする上でメタゲノムが有望な手法であることを示唆していると思われます。

Reference

[1] Hoseki et al. (1999) J. Biochem. 126, 951-956.

[2] Brouns et al. (2005) J. Biol. Chem. 280, 11422-11431