

## P-245

# プラスミドを持つ宿主の fitness (適応度) を増加させる原因因子の同定

○片岡 大亮<sup>1</sup>, レー ティー タントウ<sup>1</sup>, 道羅 英夫<sup>2</sup>, 金原 和秀<sup>1</sup>, 新谷 政己<sup>1</sup>

<sup>1</sup>静大院・総合科技・工, <sup>2</sup>静大・グリーン研

E-mail: kataoka.taisuke.15@shizuoka.ac.jp

**【目的】** プラスミドは種々の微生物間を接合伝達により伝播可能な遺伝子の運び手であり、微生物の急速な進化・環境適応に寄与すると考えられている。分子生物学の必須のツールとして用いられている一方、薬剤耐性遺伝子を伝播する媒体として問題視されている。宿主はプラスミドを保持する事で様々な影響を受けるが、選択圧のかからない条件下では宿主の fitness (適応度) を低下させる場合が多い。我々は、IncP-1 群に属するプラスミド pBP136 を保持する、*Pseudomonas putida* mt-2 株の派生株、KT2440 株及び PpY101 株の 2 株について fitness の変化を比較したところ、KT2440 株では低下し、PpY101 株では向上するという全く逆の現象を見出した。本現象は、この結果から、PpY101 株にはプラスミドを持つ際に fitness を向上させる原因因子が存在すると推定された。そこで本研究では、プラスミドと宿主の関係性を理解することを目的とし、各菌株を全ゲノム配列レベルで比較し、この違いをもたらす原因について、より詳細に調べることにした。

**【方法】** KT2440 株と PpY101 株の全 DNA を抽出後、MiSeq (Illumina 社) にてショットガンゲノムシーケンスを実施し、各菌株のドラフトゲノムシーケンスを得た。得られた配列と、既にデータベースに登録されている参照配列 (NCBI Accession no. NC\_002947, Nelson et al., 2002, Environ. Microbiol. 4:799) との比較を、large-scale blast score ratio (LS-BSR) によって行い、各菌株間の遺伝子の有無と Similarity について調べた。PpY101 株で欠落が認められた領域について、欠落させた KT2440 株の欠損変異株を作出し、本欠損株を用いて、pBP136 を保持する場合と保持しない場合についての競合試験を行った。

**【結果と考察】** 2 菌株のゲノム配列を LS-BSR によって比較し、PCR により検証したところ、PpY101 株は、KT2440 株の推定外来遺伝子領域、GI-50 (genomic island-50) 領域の一部、約 55 kb を相同組換えによって欠損していることが示唆された。そこで、KT2440 株から当該領域を除いた欠損株を作出し、pBP136 を伝達させて、プラスミド保持株と非保持株とで競合試験を行った。その結果、プラスミドを保持する欠損株では、もとの KT2440 株に比べて fitness の低下が解消されたことから、本領域にプラスミドの宿主の fitness を低下させる因子が存在されることが示唆された。現在は、本欠損株が他のプラスミドをもつ場合についても調べている。