

29. 放線菌のキチナーゼ遺伝子のクローニング

農業環境技術研究所 環境生物部 微生物管理科

要 約

土壌病害の生物防除をはじめ、様々な分野での利用が期待されている放線菌キチナーゼの遺伝子のクローニングを行い、4種類の異なるクローンを得た。クローニングした遺伝子について、制限酵素地図を作成し、解析を行った。

背景・目的

土壌中の植物病原糸状菌の制御のための利用が期待されている、放線菌のキチナーゼについて解析し、キチナーゼ遺伝子をクローニングした。S. *lividans* 66のキチナーゼ欠損変異株を、変異剤処理によりまず作成し、これを宿主としたセルフクローニング法を用いた。この方法は、組換え実験の安全性の面からも望ましい方法である。

内容及び特徴

- (1) 約5,000の形質転換体の中から、5株のキチナーゼ陽性株が得られた。これらの株からプラスミドを分離したところ、そのうちの一つは欠失 (*deletion*) がはげしく不安定であった。そこで残りの4つ (pIJ 702 -C1, -C5, -C7, -C8) について、さらに解析した。pIJ 702 -C1とC5ではexo型のキチナーゼ活性が、またpIJ 702 -C7とC8ではendo型のキチナーゼ活性が強かった。それぞれのプラスミドについて、制限酵素地図を作成した。その結果によるとお互いに共通の断片は認められず、それぞれが別のキチナーゼ遺伝子のクローンである可能性が強いことが示唆された。
- (2) 分子生物学的研究が比較的遅れている放線菌の、有用な機能の遺伝子についてクローニングできた。同様な方法により、放線菌のその他の有用機能についても、クローニングが可能と考えられる。こうしてクローニングされた遺伝子を解析していくことにより、微生物の機能に関する新たな解析や新しい利用方法が可能となる。

活用面と留意点

当面は基礎的な研究の面に限られるが、上に述べたような新しい利用方法の開発へと発展させることが可能である。

遺伝子がクローニングされた意味は大きいですが、遺伝子の研究はクローニングされればそれで終わりではなく、クローニングされた遺伝子を用いてさらに詳細な解析を行うことが重要である。遺伝子を材料として用い、基礎的ないろいろな面での研究に役立てていくことに留意する必要がある。

キーワード

キチナーゼ、キチナーゼ遺伝子、クローニング、放線菌

(宮下清貴・沢田泰男)

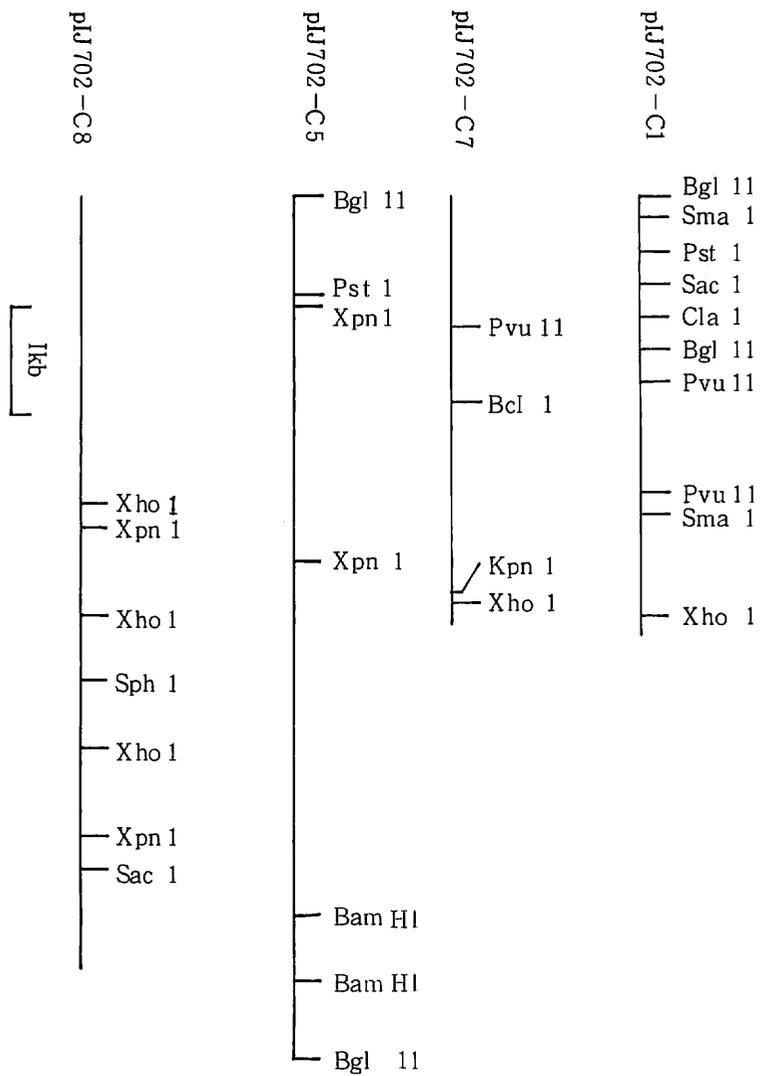


図 キチナーゼクローンのプラスミドの制限酵素地図