

R プライム P₃ の遺伝的構造

春日 徳彦

前報¹⁾において P₁ および P₃ プラズミド²⁾ はともに *gpt(gxu)* をもっていることを報告した。ところでサルモネラ染色体上には *pro A, B* 近傍にファージ P 22 の attachment site (*ata A*) があるが³⁾、大腸菌もほぼ同じ位置に *ata A* をもっていることが報告されている⁴⁾。それによると F' ₁₂₈ *pro, lac* をサルモネラのその部位の欠損株に伝達し、P 22 をそのプラズミド上に溶原化させることができたという。さらにその溶原化株からファージを誘発し、各マーカーについてどのような HFT lysate が得られるかによって、この部分の遺伝子配列を決定している。説明のため、その報告から図を転載した(図 1)。HFT lysate として P 22 *arg*, P 22 *pro* および P 22 *lac, gxu, pro* が得られたことから、この F プライムが由来した元株での染色体上の遺伝子配列は

gxu-pro A, B-ata A-arg F-(F)-lac と推定された。

大腸菌の染色体地図⁵⁾ではこの部分の配列は *pro A-arg F-pro B-lac* であり、完全には一致しない。この説明としては、*pro B* と *lac* の間 (あるいは *pro A* と *B* の間) に他の DNA 断片が挿入されやすい部分があるので、用いる株によって *pro A, B* の位置関係が異なるという指摘⁶⁾ がおそらく正しいのであろう。

P₁ および P₃ プラズミドが *ata A* をもっているかどうか検討した。用いた株は *Salmonella typhimurium* E 66 *nal* である。この株では *gpt-pro A, B-ata A* が deletion であるので、P 22 は *ata A* に溶原化することはない。この株に P₁ または P₃ プラズミドを接合で伝達させた。プラズミドが *ata A* をもっていれば、P 22 はプラズミド上に溶原化するはずである。溶原化にはレプレッサーが温度感受性である P 22 の変異ファージ ϕ 191 を使用した。P 22 に対する抵抗性は P 22 のヴィルレントファージである H-5 でチェックした。

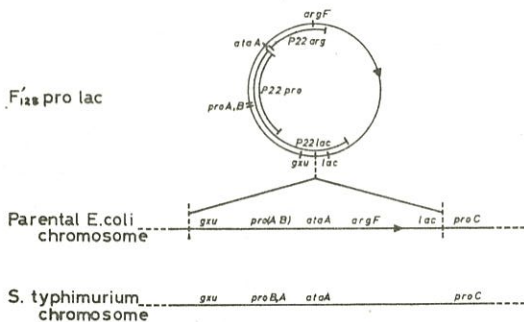


図 1

表 1 P₃ 上への P 22 の溶原化と解離

	<i>gpt</i>	<i>pro A, B</i>	<i>cml</i>	<i>tet</i>	Resist. to H-5
E66 <i>nal</i> /P ₃ (191)	+	+	+	+	r
P ₃ TC(191)	-	-	-	+	r
P ₃ TC•CM(191)	-	-	+	+	r
<hr/>					
E66 <i>nal</i> /P ₃ (191)	{+	+	+	+	s
	{-	-	-	+	r
P ₃ TC (191)	{+	+	+	+	s
	{-	-	+	+	r
P ₃ TC•CM(191)	{-	-	-	+	s
	{-	-	+	+	r

E66 *nal*/P₃ に ϕ 191 を感染させ、32°C で培養し、生じたタービッドブラックを拾った。3回の純培養後、H-5 に抵抗性を示した株を溶原化株とした (E66 *nal*/P₃(191))。H-5 に対する抵抗性はプラズミドの伝達に際して他のマーカーと行動を共にすること、溶原化株を 42°C で培養すると、 ϕ 191 が誘発されることを確認した。

しかし E66 *nal*/P₁ 株からは溶原化株を得ることができなかった。このことから *ata A* は P₃ プラズミドにおいてクロラムフェニコール (CM) 耐性遺伝子 (*cml*) に隣接して存在し、これが *cml* と共に 解離した結果、P₁ プラズミドが生じたと考えられる。

E 66 *nal*/P₃(191) 株を 42°C で液体培養した後平板に塗抹し、生じた集落をランダムに拾い H-5 に対する抵抗性をしらべたところ、依然として抵抗性をもっているものと、感受性になったもののがほぼ同数ずつ得られた。この時他のマーカーも解離していて、そのパターンには 2 種類あった。それは表 1 に示したように (1) H-5 抵抗性をもっているものはテトラサイクリン (TC) 耐性遺伝子 (*tet*) のみが残存していて、*gpt, pro A, B, cml, tet* のもとのマーカーをすべてもっている株は H-5 に感受性である場合、(2) H-5 抵抗性株が *tet* に加えて *cml* ももっている場合、の 2 種類である。この時各々で生じたすべてのマーカーをもっていて、H-5 抵抗性のみを失ったものは、単に溶原化していた ϕ 191 が解離したものと考えられる。

上記から新しい溶原化株 E66 *nal*/P₃ TC(191) と E66 *nal*/P₃ TC•CM(191) が得られた。これらにおいても P

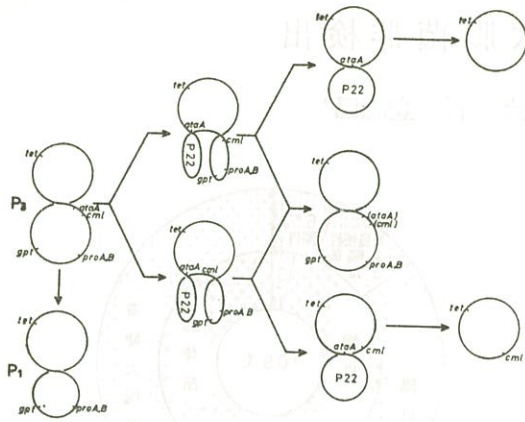


図 2

ラズミドの伝達に伴ってH-5抵抗性も伝達され、42°C培養でφ191を誘発することができた。

これらの溶原化株を再び42°Cで培養し、集落のH-5抵抗性をしらべるという操作をくり返すと、やはりH-5感受性株が生じてくる。他のマーカーの解離はみられないので、これは溶原化していたφ191のみが解離した結果と考えられる。

上記のすべての現象を統一的に説明するモデルとして図2のようなP₃プラズミドの遺伝的構造を提案する。P₃プラズミドではその作製に用いたR_{tet}部分と、pick-upされた宿主染色体部分が、一つねじれた部分で組み換えをおこし、全体として環状になっていると考える。

P22は直接染色体部の $ata A$ に安定して溶原化することはできず、 $ata A$ がR部にシフトした時のみ安定な溶原化株が得られる。この溶原化株を高温で培養すると、P22と染色体部の解離がまったく無作為的におこり、その結果P22を失なったものP₃プラズミドと、染色体部を失なったR_{tet}(P22)、つまり表1のP₃TC(191)が生ずる。

染色体部のシフトが $ata A$ のみならず cml にまで及ぶこともある。この場合、 cml はR部に移行しているので染色体部の解離に際して脱落することなく、最終的にR_{tet}, cml という新しいRプラズミドが生ずるのである。

文 献

- 1) Kasuga, T. 1975. Ann. Rept. Yamanashi. Inst. Publ. Hlth. **19**:58-61. (in Japanese)
- 2) Iyobe, S., H. Hashimoto and S. Mitsuhashi. 1975. Japan. J. Bacteriol. **30**: 547-548. (in Japanese)
- 3) Bagdian, G. B. and P. H. Mäkelä. 1971. Virology **43**: 403-411.
- 4) Hoppe, I. and J. Roth. 1974. Genetics **76**: 633-654.
- 5) Tylor, A. L. and C. D. Trotter. 1972. Bacteriol. Rev. **36**: 504-524.