

ビフィズス菌由来挿入配列 TLS143 の転移活性および挿入特異性の解析

食品安全・機能性開発学講座 胃腸内圏微生物学分野
阪中幹祥

【背景と目的】

ビフィズス菌は、腸管内に生息する嫌気性細菌であり、宿主との相互作用により宿主の健康を増進することが知られている。その一方で、宿主との相互作用に関わるビフィズス菌の遺伝子とその機能については不明な点が多い。我々は、これらの遺伝子を特定するために、挿入配列を利用したビフィズス菌ゲノムへのランダム変異導入法の開発を目指している。本研究では、*Bifidobacterium longum* 105-A 由来の挿入配列 TLS143 (IS3 family) の転移活性および挿入特異性を解析して、TLS143 がランダム変異導入法に応用可能であるかどうかを評価した。

【方法】

まず、*B. longum* 105-A および現在公開されている *B. longum* のゲノム配列から、TLS143 の挿入部位 (標的配列とその周辺配列) を解析した。次に、大腸菌の接合伝達系を利用して、TLS143 の F プラスミドへの転移頻度とその挿入部位を解析した。まず、スペクチノマイシン (Sp) 耐性遺伝子を挿入した TLS143 (TLS143-Sp^R) を保持するベクターを構築し、これを F プラスミド保持菌に導入した。本株を供与菌として、F プラスミドを F 菌 (受容菌) へ接合伝達した。供与菌内で TLS143-Sp^R が F プラスミドへ転移すれば F::TLS143-Sp^R が生じる。これが伝達された受容菌は Sp 耐性試験によって検出可能となる。転移頻度は、接合完了受容菌の総数に対する、F::TLS143-Sp^R を保持する接合完了受容菌数の割合として算出した。

【結果・考察】

TLS143 は塩基配列特異性の低い 3 もしくは 4 塩基を標的として *B. longum* ゲノムのランダムな部位に挿入されていた。F プラスミドへの TLS143 の挿入部位も同様の傾向を示し、TLS143 は挿入特異性が低いことが明らかになった。また、TLS143 の F プラスミドへの転移頻度は 5.86×10^{-5} であった。この値は、同様の実験系で測定された大腸菌由来 IS629 (IS3 family) の値より 8.3 倍高かった。これらの結果から、TLS143 はビフィズス菌ゲノムへのランダム変異導入法に適した挿入配列であることが示唆された。