

研究課題 (テーマ)		環境中の有用プラスミドの網羅的探索・解析のための新規手法の開発	
研究者	所属学科等	職	氏名
代表者	生物工学科	助教	高橋裕里香
	生物工学科	教授	西田洋巳
研究結果の概要			
<p>プラスミドは細菌の適応進化に重要な役割を果たし、有用物質生産等の遺伝子工学にも欠かせないツールとなっている。しかし従来の研究では実環境中に存在するプラスミドを網羅しているとは言い難く、未知の有用プラスミドが眠っている可能性はおおいにある。そこで本研究では、環境 DNA からプラスミドの複製に必要な領域を機能ベースでスクリーニングする新規手法を開発することを目的とした。</p> <p>本年度はまず、DNA 存在量が多いことが知られている海底堆積物を材料として環境 DNA (メタゲノム) の精製方法を検討した。遠心分離とフィルター濾過による鉱物粒子や細胞の除去、続くフェノールクロロホルム処理とシリカカラムによる精製ステップによって、富山湾底泥から既報の方法 (Alawi et al., 2014. J Microbiol Methods) よりも簡便な操作で、分子生物学的解析に供することのできる、高品質・高純度の環境 DNA を精製することに成功した。また抽出過程で $\phi 0.02 \mu\text{m}$ のフィルター濾過を行うことでウイルス粒子を除去し、プラスミド DNA を濃縮する過程で阻害要因となるウイルス由来 DNA の混入を防げることも確認した(いずれも論文準備中)。得られた DNA を大量並列型シーケンサーによって全塩基配列決定したところ、大部分が既知プラスミドと相同性を示さない配列であったことから、本サンプルから新規プラスミドが発見される可能性が高いことが期待された。</p>			
今後の展開			
<p>本研究によって富山湾由来の環境 DNA の準備が完了したので、今後はスクリーニング系の確立を目指す。まずは、既知のプラスミド配列を組み込んだベクターを用いたコントロール実験によって、<i>in vitro</i> 転写・翻訳反応を行うとベクターが複製されることを確認する。</p>			

【留意事項】

- 1 内容は研究途上にあるものや特許に関わるものなどを除き、「公表してよい部分」のみ記載してください。
- 2 できるだけ、専門外の一般者でも理解できるよう、わかりやすく平易な文章で記載してください。
- 3 できるだけA4（ワード様式）1枚で収まるように記載してください。
- 4 様式は、電子データで提出してください。