

109

植物病原性糸状菌 *Fusarium solani* の有するウィルス様粒子  
(信州大、繊維、応用生物) ○野川優洋、影山 努、下坂 誠、岡崎光雄

- 1) 目的 *Fusarium* 菌において病原性との関連が予想される染色体外レプリコンのスクリーニングを行った結果、*F. solani* f. sp. *robiniae* SUF704 に2種の二本鎖(ds)RNAを検出できた。糸状菌でのdsRNAは一般的にウィルス様粒子(VLP)のゲノム成分として知られている。そこで、このdsRNAについて、関連するVLPの精製とその性質について調べた。
- 2) 方法 Czapek-Dox基本培地で培養して得た菌糸を液体窒素存在下で破碎し、リン酸緩衝液で細胞内成分を抽出後、様々な遠心分離を組み合わせてVLPを精製した。精製したVLPを電子顕微鏡で観察すると共に、SDS-PAGEでVLPに関連するポリペプチドについて分析を行った。また、分生子を介したVLPの伝達性について検討を行った。
- 3) 結果 細胞抽出物のアガロースゲル電気泳動による分析から、2種のdsRNA(R1:2.1kb, R2:1.8kb)以外に移動度の小さなS, F成分が観察された。このS, F成分はdsRNAを含む核酸タンパク質複合体であった。CsCl<sub>2</sub>密度勾配遠心で浮遊密度1.36g/mlに分画されたS成分をネガティブ染色し電子顕微鏡による観察を行ったところ、直径約30nmの球状のVLPが観察された。また、同じ分画のSDS-PAGEによる分析から主要なポリペプチドは38kDaの大きさを有し、これ以外にもマイナーバンドが高分子量領域に存在した。また、R1, R2は分生子を介して比較的安定(80-90%)に伝達された。現在、R1, R2に対するcDNAの合成と、菌糸融合を介した他の*Fusarium* 菌へのVLPの導入を検討している。

Virus-Like Particle in the Plant Pathogenic Fungus *Fusarium solani*.

○Masahiro Nogawa, Tsutomu Kageyama, Makoto Shimosaka, Mitsuo Okazaki  
(Dept. Applied Biol., Fac. Textile. Sci. & Technol., Shinshu Univ.)

110

大腸菌K-12株を宿主とするピルレントファージの解析  
(沼津工専・物質工学<sup>1)</sup>、広島大・工・醸酵<sup>2)</sup>、東ソー・生物工学研<sup>3)</sup>)  
久保 幹<sup>1)</sup>、○新川英典<sup>2)</sup>、新見 治<sup>2)</sup>、竹本久雄<sup>3)</sup>

【目的】 近年、分子生物学及び組替えDNA技術の進歩とともに、遺伝子発現を最適化するような発現ベクターが種々開発された。この技術は、天然には微量しか生産されない物質や、培養が効率良く行えない生物由来のものの場合有効な手段であり、大腸菌のように取扱いが容易な菌株で、有用酵素や生理活性ペプチド等を大量生産することが可能となった。しかし、実際にプラント化するには様々な問題がある。プラント稼働中のピルレントファージの混入もその1つである。このようなファージに対する防御策を講じるうえでファージの感染機構等の基礎解析を行なうことは有意義であると思われる。また、新規のものであれば、DNA polymerase, RNA polymerase, Lytic enzyme 等新規なものが期待される。このようなことから偶然分離されたピルレントファージの解析を試みた。

【方法および結果】 大腸菌 *Escherichia coli* KY1436 を宿主として組替えDNA実験を行っているときに分離されたファージTKは、透明で大きなプラークを形成し、本菌に対して強いピルレンスを示した。この溶菌液を用いて宿主域を調べた結果、大腸菌類縁の腸内細菌には感染せず、また*E. coli* B株及びC株にも感染しなかった。K-12株由来の菌株にのみ感染し、F因子の有無は感染に影響しなかった。この事より本ファージは新規なものと思われるので、ゲノムの解析を行なった。定法に従いゲノムを抽出し、DNase, RNase 制限酵素による消化を行なったところ、本ファージのゲノムは二本鎖DNAである事が分かった。*EcoRI*, *EcoRV*, *BamHI*, *BglII*, *SmaI* 等で切断され、ゲノムサイズは約40kbと推定された。現在ゲノムの詳細な解析及び電子顕微鏡による形態の観察を行なっている。

Characterization of a virulent phage of *Escherichia coli* K-12  
Motoki Kubo<sup>1</sup>, Hidenori Shinkawa<sup>2</sup>, Osamu Nimi<sup>2</sup> and Hisao Takenoto<sup>3</sup>  
Dept. Chem.-Biochem., Numazu College of Technol.  
Dept. Ferment. Technol., Hiroshima Univ.<sup>2</sup>, Biotechnol. Research Labo., TOSOH Corp.<sup>3</sup>