

8 分類学・遺伝学

111

海洋藍藻 *Synechococcus* sp. NKBG042902 に感染するシアノファージのキャラクタリゼーション (農工大・工・物質生物) 早出広司・○大関美代子・松永是

目的) 演者らは海洋藍藻のためのファージベクターを開発することを目的として、海洋藍藻に感染するシアノファージに関する研究を行っている。今回は、海洋藍藻 *Synechococcus* sp. NKBG042902 に感染するシアノファージの特性について報告する。

方法) 演者らによって東京湾の海水から単離された海洋シアノファージを濃縮後、海洋藍藻 *Synechococcus* sp. NKBG042902 に加え、シアノファージを海洋藍藻に感染、増殖させた。得られた溶菌液を濃縮して TEM による形態観察、宿主域の検討、DNA の解析、溶原性の確認および誘発原の検討などのキャラクタリゼーションを行った。

結果) 海洋藍藻 NKBG042902 に感染するシアノファージを TEM を用いて観察した結果、このシアノファージは収縮する尾部をもち、これにより 2 つの異なる形態を取り得ることがわかった。単細胞性の藍藻に感染するシアノファージでこのような特徴を有するものは淡水性の藍藻 *Anacystis nidulans* をホストとする AS-1 だけである。しかし AS-1 は NKBG042902 には感染しないこと、またこのシアノファージが *A. nidulans* には感染しないこと、AS-1 の DNA とこのシアノファージの DNA との間にはホモロジーが見られなかったことから、新種のシアノファージであると思われる。ゲノムは 2 重螺旋 DNA であり、40Kb 以上の大きさをもっていた。さらに、このシアノファージはテンペレートファージであることが確認された。誘発原として紫外線照射、ヒートショック、マイトマイシン C の投与を行った結果、マイトマイシン C により誘発された。NKBG042902 以外の海洋藍藻に対して宿主域の検索を行ったが、ホストとなる藍藻は観察されなかった。

Characterization of cyanophage infecting marine cyanobacteria *Synechococcus* sp. NKBG042902

Koji Sode, Miyoko Oozeki and Tadashi Matsunaga

(Dept. Biotechnol., Tokyo Univ. of Agric. and Technol.)

112

海洋藍藻を用いた外来遺伝子の発現

(東京農工大・工・物生) 早出広司、○多田羅昌浩、松永是

[目的] 海洋藍藻を用いて有用物質を高効率に発現させるためには、海洋藍藻内で活性の強いプロモーターを用いることが必要である。演者らは既に、接合伝達により海洋藍藻に遺伝子を導入することに成功している。本研究では、接合伝達により海洋藍藻に chloramphenicol acetyltransferase (CAT) 遺伝子を組込んだプラスミドを導入し、CAT の発現を検討すると共に海洋藍藻内で活性の強いプロモーターを検索することを目的に実験を行った。

[方法および結果] ベクタープラスミドとしては、被伝達能を有する広宿主ベクターである pKT230 を用いた。まず、pKT230 にコードされている Km のプロモーターの下流に CAT 遺伝子を組み込み、2 種類のプラスミド pKCAT230-1 (CAT 遺伝子が 1 個組み込まれたプラスミド)、pKCAT230-2 (CAT 遺伝子が 2 個組み込まれたプラスミド) を作製した。作製した 2 種類のプラスミドを、接合能をもつ大腸菌 S17-1 に形質転換し、海洋藍藻 NKBG15041c と混合することにより接合伝達を行った。得られた接合伝達体を用いて CAT アッセイを行い海洋藍藻内での CAT の発現について検討した結果、15041c/pKCAT230-1, 15041c/pKCAT230-2 の両株で単位菌体当たりに発現する CAT の量は増殖によらずほぼ一定であり、15041c/pKCAT230-1 では 4.5 nunit/cell、15041c/pKCAT230-2 では 10 nunit/cell であった。この結果から、15041c/pKCAT230-2 での CAT の発現量は、15041c/pKCAT230-1 での発現量の 2 倍程度であることが分かった。現在、海洋藍藻内で活性の強いプロモーターを検索するため、プロモーター検索用ベクターを作製中である。

Foreign gene expression using marine cyanobacteria

Koji Sode, Masahiro Tatara, Tadashi Matsunaga

(Dept. of Biotechnol. Tokyo Univ. of Agric. & Technol.)