

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
キャラクターゼーション

(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ー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プ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域ベクターである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4.5nunit/cell、15041c/pKCAT230-2では10nunit/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.)