146 各種 Pseudomonas syringae のエチレン生成酵素の遺伝子レベルと
 蛋白レベルからみた相同性

(熊工大・応微工、*農水省・蚕昆研、**熊大医・第2生化) ○長濱一弘、
 石原克哉、藤井隆夫、佐藤守*、棚瀬純男**、小川隆平、福田秀雄

1. 目的 Ps. syringae pv. phaseolicola PK2 のエチレン生成酵素 (EFE) は当研究室で単一蛋白質まで精製され¹⁾、その全塩基配列が決定された²⁾。今回は、この Ps. syringae pv. phaseolicola PK2、および同種の他株について、それぞれのエチレン生成酵素の蛋白、ならびに遺伝子レベルでの相同性を調べた。
 2. 方法 エチレン生産菌として Ps. syringae pv. phaseolicola 9株、Ps. syringae pv. glycinea 5株、エチレン非生産菌として Ps. syringae pv. mori 4株を使用し、各菌株の培養には0.5% グルコース含有改変NB培地を用いた。ウエスタンブロッティングには Ps. syringae pv. phaseolicola PK2由来の精製酵素標品に対して調製された抗体を用い、サザンブロッティングには pEFE02由来2.5kbpのHind III 断片をプローブとしてDIG Luminescent Detection Kit で調べた。エチレン生成酵素の活性測定法は常法に従って行った。
 3. 結果 酵素レベルでの比較を行うため各菌株の無細胞抽出液を調製し、ウエスタンブロッティングを行った結果、エチレン生産菌のみに分子量4万のEFE相当のバンドが認められ、非生産菌には認められなかった。一方、pEFE02由来2.5kbpのHind III 断片をプローブとしてサザンブロッティングを行った結果、全てのエチレン生産菌についてはハイブリダイズするバンドを得たが、非生産菌では何も認められなかった。
- 1) K. Nagahama et al., J. Gen. Microbiol., 137, 2281 (1991).
 2) 石原克哉ら、日本発酵工学会大会講演要旨集 (1992).

Homology of gene and protein levels of ethylene-forming enzymes from various Pseudomonas syringae. ○ Kazuhiro Nagahama, Katsuya Isihara, Takao Fujii, Mamoru Sato*, Sumio Tanase***, Takahira Ogawa, Hideo Fukuda. (Dept. Appl. Microbial Technol., Kumamoto Inst. of Technol., * NISES, MAFF, ** Dept. Biochem., Kumamoto Univ. Medical School)

147 氷核活性細菌の遺伝子工学的研究 (その4) Pseudomonas viridiflava
 KUIN-2の氷核活性遺伝子の由来と特性。

(関大・工・生工) 大釜英貴、○田村雅宏、長谷川喜衛、小幡 齊、徳山 泰

1. 目的 氷核活性細菌 Pseudomonas viridiflava KUIN-2の氷核活性遺伝子をコスミドベクター-Homer IIIを用いてクローニングした結果、目的とする氷核活性遺伝子が約13.2 kb EcoRI断片上に存在し、その断片を環状化する事により新規プラスミド、pNVR-1を得た¹⁾²⁾。今回はその氷核活性遺伝子の特性について検討した結果、若干の知見が得られたのでここに報告する。
 2. 方法と結果 pNVR-1を保持する E. coli JM109は良好な氷核活性とアンピシリン耐性を示す。そして、熱処理によるその氷核活性への影響は元株の場合よりも低いものであった。次に、P. viridiflava KUIN-2ゲノムには染色体の他に約30 kbの大きさのプラスミド (pINA) が存在している事が明らかになったため、pNVR-1をプローブとして用い、pINAをEcoRI消化したものにサザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、約13 kb-EcoRI断片とのハイブリッドが検出され、pNVR-1プラスミドがpINAプラスミドから誘導されたものである事が明らかになった。また、pNVR-1を保持する E. coli JM109の最適生育温度がそれを保持しない場合に比べて約10℃も低温側に移行するという現象が観察され、現在、その現象と氷核活性遺伝子との関連について検討中である。
- 1) J. Ferment. Bioeng. 70, 143-147 (1990)
 2) J. Ferment. Bioeng. (in press)

Characterization of ice nucleation active gene from Pseudomonas viridiflava KUIN-2.
 Hideki OHGAMA, Masahiro TAMURA, Yoshie HASEGAWA Hitoshi OBATA and Tai TOKUYAMA
 Dept. Biotechnol., Kansai Univ.