

517

酵母の電界融合—培養連続装置と培養時における電気的効果  
(富山大・工・化学生物工) ○須加実、磯部正治、畠山豊正

【目的】電界融合法の利点の1つは融合した細胞を電界パルス印加と同時に顕微鏡下で同定できることである。また、近年微生物細胞の増殖に対する電気磁気的効果について研究されてきている。本研究では電界融合—培養の基礎的な知見を得、かつ培養時の電気的効果について検討したので報告する。

【方法及び結果】従来、酵母の融合時の溶液に浸透圧を調整するためにソルビトール溶液を用いていたが、これを10%グルコース溶液に置き換え、YM寒天培地上に電極対(炭素電極)を置いて電界融合を行った。従って、融合後に電極プール内の溶液を入れ替える必要がなくなる。このとき交流電界1MHz、10kV/mでパールチェーンを形成し、直流高電界パルスを印加した。最も細胞融合が起こり易かったのは、電界強度700kV/m、時定数40 $\mu$ sのパルスを、約1s間隔で2回印加したときであり、融合割合は、ソルビトールの場合と同様に、約10%であった。従って、グルコース溶液でも酵母の細胞融合が可能であり、また寒天培地を組み込むことで融合と培養が連続して行うことができた。次に、炭素電極間のYM寒天培地に直流電界を100V/m印加して、培地上の酵母の増殖をコロニーの形成によって観察した。その結果、電極間の中央部で増殖が観察され、両電極周辺ではコロニーが形成されなかった。この場合、電界印加によって培地のpHが変化してpH2(陽極側)~pH8(陰極側)の勾配分布が生じた。そのため中央部の微酸性の領域(pH4~6)のみで酵母が増殖してこのような現象が生じた。このことから酵母の増殖を電界を用い間接的に制御することが可能であることが分かった。

Electrofusion-culture of yeast cells and electric effect on their culture

○Minoru Suga, Masaharu Isobe, Toyomasa Hatakeyama (Dept. of Chem. Biochem., Toyama Univ.)

【Key Words】electrofusion, yeast, electric field, cell culture

518

酵母PH05発現ベクターによる組換えタンパク質生産システムの改良  
(阪大・工・応用生物) ○水野貴之、原島 俊、大嶋泰治

【目的】酵母の抑制性酸性ホスファターゼをコードするPH05遺伝子のプロモーター(PH05p)は、B型肝炎ウイルス表面抗原など、酵母宿主を用いた組換えタンパク質の生産にしばしば用いられている強力なプロモーターである。我々は以前に、転写の活性化に必要な調節領域(UAS)が無い条件下でもPH05pの強い発現を示すbel変異株を分離した。本研究は、酵母PH05発現ベクターによる組換えタンパク質生産システム改良へのbel変異の応用を目的として行った。

【方法及び結果】PH05pは培地中の磷酸濃度が低いとき、転写活性化因子Pho4の作用によって活性化される。従って、PH05pの発現が抑制される濃度の磷酸を含有する天然培地では高い生産性が得られない。bel変異株を宿主とすれば、増殖に適した天然培地を用いてもPH05pの高い発現が得られることを見いだした。PH05p発現ベクターを利用した組換えタンパク質の生産におけるbel変異株の宿主としての有効性を、i) 安価な天然培地での生産性、ii) bel変異と脱抑制条件やPH05pが構成的に脱抑制されるpho80、pho85変異との加算効果の観点から報告する。

Improvement of expression system with PH05 promoter in *S. cerevisiae* host  
○Takayuki Mizuno, Satoshi Harashima, and Yasuji Oshima (Dept. of Biotechnol., Osaka Univ.)

【Key Words】*S. cerevisiae*, PH05 expression system