The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

745

Streptomyces rochei 変異株の生産する細胞壁溶解酵素による酵母プロトプラストの形成

（大関・総研） ○西 晶子、大淵 和彦、浜地 正昭

【目的】 前報で報告した、*S. rochei* 変異株の生産する酵母細胞壁溶解酵素は赤色酵母*Phaffia rhodozyma* をはじめ多くの酵母生細胞に溶解活性を示した。一方、酵母のプロトプラスト形成に関しては、*Saccharomyces* 属など一部の酵母を除いて、報告されている例は少ない。そこで本研究では、前記酵素を用いて、*P. rhodozyma* 及び他の酵母のプロトプラスト形成について検討した。

【方法及び結果】 *P. rhodozyma* 菌体に対し、種々のスタビライザーを用いて本酵素を作用させたところ、スタビライザーとして有機酸塩を用いたとき、特別な前処理を必要とせずに9割以上のプロトプラスト形成が観察され、適当な浸透圧に調整したプレートを用意することにより再生が確認できた。また、他の酵母についても、酒石酸ナトリウムをスタビライザーとして用いて多くの株でプロトプラスト形成を観察し、これは前報の溶菌スペクトルの結果と比較しても、高いプロトプラスト形成率であった。また酒石酸ナトリウムの効果について検討した結果、本酵素の酵母に対する作用は、酒石酸ナトリウムの添加によって高められることがわかった。

Protoplasts formation from various yeasts with the lytic enzyme produced by *Streptomyces rochei* mutant.

○Akiko Nishi, Kazuhiko Ohbuchi, Masaaki Hamachi, (Gen. Res. Lab., Ozeki Corp.)

【Key Words】 *Phaffia rhodozyma*, lytic enzyme, yeast, protoplast

746

カセットPCR法による新規酵素の単離

○ 奥田明子, 大西浩平, 原山重明 （海洋バイオ・釜石研）

<目的> 有用な変異タンパク質の作製には様々な手法が用いられている。しかし既存の方法では限界があり、より速く確実に目的とする機能をもつタンパク質を作成するための新しい技術が求められている。本研究では、より迅速に直接環境中から特定の酵素、カテコール2,3-ジオキシゲナーゼを得るためにPCR法を用いたキメラ酵素の作成を試みた。

<方法及び結果> 既知のカテコール2,3-ジオキシゲナーゼのアミノ酸配列から保存されている部分を選び、そのDNA配列に*nahH*の配列を付加したものをプライマーとして使用した。フェノールの集積培養によって得られた混合菌から抽出した染色体DNAを鋳型としてPCRを行ったところ、目的の大きさの断片が得られた。このPCR産物と別に用意した*nahH*の5'又は3'端の配列をもつDNA断片を混合して再度PCRを行い、完全長のPCR産物を得た。このPCR産物をクローニングして塩基配列を決定したところ、中央部分に新規の配列をもつクローンが得られた。さらにこれらの新規配列から作られるタンパク質がカテコール2,3-ジオキシゲナーゼ活性をもつことが示された。(本研究開発は産業科学技術研究開発の一環として、新エネルギー産業技術総合開発機構から委託を受けて実施したものである。)

Isolation of new enzimes by cassette PCR

Akiko Okuta, Kouhei Ohnishi, Shigeaki Harayama
(Marine Biotechnology Institue, Kamaishi Institue)

key words : cassette PCR, catechol 2,3-dioxygenase

NII-Electronic Library Service