

135 ハイブリダイゼーション法によるDNA塩基配列決定法 (第3報)  
(三菱化学・筑波研)

○畠山和久、桑原孔一朗、小林 幹、寺沢真人、湯川英明

【目的】 ハイブリダイゼーション法を用いたDNA塩基配列決定法 (SBH法; Sequencing by Hybridization) の確立を目標とし、完全相補ハイブリッドと一塩基ミスマッチの判別能の向上と、検出シグナルの増強を目的としてハイブリダイゼーション条件の検討を行った。

【方法および結果】 我々はこれまでにDNAプローブの両末端にイノシンを導入することで、ハイブリダイゼーション感度及びミスマッチ判別能の向上を報告している (イノシン・プローブ法)<sup>1)</sup>。また、ハイブリダイゼーション溶液組成の検討結果、ハイブリダイゼーション反応液への界面活性剤の添加が、感度向上に有効であることを確認している<sup>2)</sup>。今回は、イノシンプローブ法における、DNAプローブ鎖長のハイブリダイゼーションへの影響を検討したので報告する。

本研究は、通産省の地球環境産業技術研究開発制度の一環として、新エネルギー・産業技術総合開発機構より依頼を受けて、実施したものである。

1) 平成7年度日本分子生物学会要旨集 p. 521

2) 平成8年度日本農芸化学会要旨集 p. 72

Systematic investigation of hybridization condition for establishing an efficient DNA sequencing method (III).

○Kazuhisa Hatakeyama, Kouichirou Kuwahara, Miki Kobayashi, Masato Terasawa, Hideaki Yukawa

(Tsukuba Research Center, Mitsubishi Chemical Corp.)

【Key Words】 sequencing by hybridization, inosine

136 *Zymomonas* 属細菌におけるシグナルペプチド非依存型分泌酵素の分泌に関与する遺伝子  
(鳥取大・生物応用, \*福山大・食品工学)  
築瀬英司, ○山田浩之, 岩佐恵一郎, 岡本賢治, 喜多恵子, \*外村健三

【目的】 グラム陰性細菌, *Zymomonas mobilis* の生産するレバンスクララーゼとインベルターゼはN末領域にシグナルペプチド様配列が認められないにもかかわらず、内膜や外膜を透過して分泌される。本研究は、シグナルペプチド非依存型分泌機構の解明を目的として、*Z. mobilis* の染色体DNAからクローン化した分泌促進遺伝子 (*zliS*, ORF: 533 bp, Mw: 20726) の機能を大腸菌と *Z. mobilis* 菌の細胞内で比較した。

【方法と結果】 大腸菌内での *zliS* の発現は、共存させた *Z. mobilis* 由来レバンスクララーゼやインベルターゼの分泌を促進するとともに、シグナルペプチド依存型分泌酵素の分泌を促進した。しかし、*zliS* の高発現が生育阻害や溶菌を誘導したことから、*zliS* の高発現により大腸菌細胞の膜構造が変化したと考察した。しかし、*Z. mobilis* 内での *zliS* の発現では、顕著なレバンスクララーゼやインベルターゼの分泌促進効果は観察されず、これら酵素の分泌には *zliS* とともに複数の分泌遺伝子の関与が推定された。

*Zymomonas* genes that enhances secretion of extracellular levansucrase and invertase

H. Yanase, ○H. Yamada, K. Iwasa, K. Okamoto, K. Kita, K. Tonomura\* (Dept. Biotechnol., Tottori Univ., \*Dept. Food Sci., Fukuyama Univ.)

【Key Words】 secretion, levansucrase, *Zymomonas mobilis*