

1319 高電圧パルス処理による酵母の穿孔と蛍光物質の導入  
(阪市大・工・生応化) 大嶋 寛、○城本崇広、河合英史、  
東 雅之、加藤錠治

【目的】酵母 *S.cerevisiae* から、酵母を破碎することなしにタンパク質を取得する目的で、高電圧パルスによる穿孔処理を試みたが、タンパク質の漏出はわずかであった。一例を挙げると、低分子の核酸が45%漏出する条件の高電圧パルス処理では、タンパク質の漏出は全タンパク質の5-8%であった。そこで、高電圧パルス処理による酵母の穿孔状態を明らかにするために、サイズ、親・疎水性の異なる蛍光物質の導入実験を行った。

【方法及び結果】酵母懸濁液に高電圧パルス処理を行うことで、様々な蛍光物質を酵母に導入した。その結果、疎水性のローダミンB(479Da)は細胞膜まで、親水性のカルボキシフルオレセイン(376Da)は細胞質まで導入されることが共焦点レーザー走査顕微鏡で観察された。高分子のローダミンBデキストランについても70kDaまではこの高電圧パルス処理により細胞質まで導入されることが確認された。さらに、高電圧パルス処理による細胞膜の損傷、それに対する修復について検討した。

Electroporation on Yeast Cells : Introduction of Fluorochromes

Hiroshi Ooshima, ○Johmoto Takahiro, Eiji Kawai, Masayuki Azuma, Jyoji Kato (Dept. Bioappl. Chem., Osaka City Univ.)

【Key Words】 electroporation, yeast, introduction of fluorochromes, release of protein, bioseparation

1320 水性二層分配系における界面への集中現象  
(工技院・生命研) ○木村和義

【目的】 水性二層分配系において顆粒状物質等が界面部分に集中する現象がしばしば観察される。この現象は効率的な分離へ応用が期待されるが、定量解析的研究は少なく、実用的利用例は見られない。本研究は界面集中を伴う水性二層分配挙動の定量化・モデル化を目的としている。

【方法及び結果】 二層分配系での界面への集中は界面(層)への分配によるのみでなく、分配液内での過飽和や塩析効果からの沈殿等の二次的要因による場合もある。本研究では二層分配に起因する界面集中を評価するため、二層分配に依る界面(層)への集中を示した<sup>1)</sup>リン酸カリウム/PEG系における酵母RNAの分配挙動を例として検討した。系の組成をバイノードルから遠ざけて二層間の界面張力を大きくするとより強く界面へ集中したが、高濃度(0.5M以上)NaCl添加で界面張力を大きくすると界面への集中傾向は減少した。また、全RNA調整品(低分子(5.8S以下)と高分子(17S以上)の混合物)の分配から、高分子RNAの界面集中に相関した低分子RNAの界面への(共)集中を定量的に観察した。これらのRNA分配挙動から二層分配に起因する界面集中現象について考察する。

1) Kimura & Kobayashi, Biotech. Tech., 8, 473 (1994)

Concentration at the interface with partitioning in aqueous two-phase system

○Kazuyoshi Kimura (Natl. Inst. Biosci. Human-tech., AIST)

【Key words】 Bioseparation, Partition, Aqueous two-phase system, Concentration, Interface