

**1Gp21 ハイブリッドプロモーターシステムを用いた温熱誘導型遺伝子治療の開発**

○山口 雅紀, 井藤 彰, 岡本 憲明, 河邊 佳典, 上平 正道  
(九大院・工・化工)  
kamihira@chem-eng.kyushu-u.ac.jp

[目的] 熱ショックタンパク質は、細胞が熱等のストレス環境下にさらされた際に発現が上昇し、変性した細胞内タンパク質の修復にはたらく分子シャペロンである。ヒト Hsp70B' はストレス環境下で迅速に発現誘導され、ストレスなしの環境下では発現がほとんど検出されないタンパク質として報告されている。本研究では、この Hsp70B' のプロモーター領域と Tet-Off システムとを融合することで、温熱誘導型の遺伝子大量発現システムの構築を目的とした。

[実験方法及び結果] 加温をスイッチとして Hsp70B' プロモーターが活性化し、LacZ 遺伝子および tTA が発現し、生産された tTA でさらに LacZ 遺伝子の大量発現が誘導されるプラスミドを作製した。このプラスミドを HeLa 細胞に一過性で導入し、LacZ 遺伝子の発現を経時的に測定した。プラスミドを導入し、加温しなかった場合には、LacZ 遺伝子の発現は誘導されなかったのに対し、43℃で1時間加温した場合には、tTA によるポジティブフィードバックの効果により、高いレベルの LacZ 遺伝子発現が誘導された。この結果から、ハイブリッドプロモーターが温熱誘導的な遺伝子大量発現を可能にすることが示され、本システムは、温熱治療と遺伝子治療を併用したガン治療に有用であると考えられる。

**Heat inducible gene therapy using a hybrid promoter system**

○Masaki Yamaguchi, Akira Ito, Noriaki Okamoto, Yosinori Kawabe, Masamichi Kamihira  
(Dept. Chem. Eng., Fac. Eng., Kyushu Univ.)

**Key words** Hsp promoter, Tet-system, hyperthermia, gene therapy

**1Hp02 生物太陽電池の発電向上に向けたラン藻 *Synechocystis* sp. の細胞凝集の促進効果**

○綾野 裕之, 柿岡 俊英  
(広島大院・先端・生命機能)  
tkakizo@hiroshima-u.ac.jp

[目的] 現在、地球温暖化と化石燃料枯渇への懸念から、これに代替する自然エネルギーの開発が求められている。光合成で生じた電子を外部回路へ取り出すことで電力を生む生物太陽電池 (Bio-solar cell) は、2-3時間/日しか稼働しない化学太陽電池に対し、日照時間および長い発電稼働時間が期待できる。本研究では、明反応で生じた余剰電子を細胞外に放出する機構を持つラン藻に着目し、その生物太陽電池の発電性能の向上を目指して、ラン藻の電極付着条件を検討した。

[方法及び結果] 淡水性ラン藻 *Synechocystis* sp. UTCC534 を BG11 培地で培養した細胞懸濁液を負極槽に入れ、負極にはモール状炭素繊維を用いた。本菌の振盪培養条件を変えた時、強い細胞凝集塊の形成が見られた。これを利用して電極表面に本菌を凝集させた結果、懸濁培養液に比べ、発生電流が約 2.7 倍上昇した。電顕観察では凝集細胞間に密な毛状構造が認められた。凝集にクオラムセンシングの関与を仮定し、その情報伝達因子である自己誘導因子 (その多くはアシルホモセリンラクトン AHL) の産生を調べるため、AHL の存在を紫色色素生産により検出できる *Chromobacterium violaceum* VIR07 株・CV026 株を用いて検定した。その結果、培養液の有機溶媒抽出画分に色素生産がみられ、AHL の存在が示された。本菌が産生する AHL の数およびそのアシル基長について TLC を用いて分析する。さらに抽出した AHL の添加による凝集促進と発電に及ぼす効果を調べる。

**Enhanced power generation by bio-solar cell using cell-aggregated *Synechocystis* sp.**

○Hiroyuki Ayano, Toshihide Kakizono  
(Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ.)

**Key words** bio-solar cell, aggregation, autoinducer, quorum sensing

**1Hp01 乳酸菌と大腸菌の共凝集体形成に関する研究**

○石場 まどか<sup>1</sup>, 石原 雅人<sup>1</sup>, 水野 康平<sup>1</sup>, 白井 有美<sup>2</sup>, 田中 元治<sup>2</sup>, 松村 香代<sup>2</sup>, 古川 壮一<sup>2</sup>, 荻原 博和<sup>2</sup>, 森水 康<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>北九州高専・物化,<sup>2</sup>日大・生資科)  
mizuno@kct.ac.jp

[目的] 微生物は、自然界で様々な環境変動を生きるために、凝集、接着する一連の生活様式を有している。我々は腸管系乳酸菌 *Lactobacillus* と大腸菌が in vitro で共凝集する現象のメカニズムを検討している。両菌の共凝集は in vivo での菌叢形成にも影響をもっているのではないかと考えられる。本研究では、in vitro での共凝集体の形成条件を検討して、共凝集体の諸性質・生理学的意義を明らかにすることを目的とする。

[方法・結果] *Lactobacillus casei* NBRC3831 と *Escherichia coli* MG1655 及び大腸菌遺伝子欠損株 (*AfliC*, *AfigH*, *AfimA*, *AfimD*, *AcsgA*, *AcsgB*, *ArfaC*, *ArfaG*, *ArpoS*) をそれぞれ MRS、LB 培地で 37℃、24 時間、前培養を行った。シャーレに同一菌数 (10<sup>8</sup> cells/ml) で *L. casei* NBRC3831 と大腸菌の前培養液を混合して、静置複合培養を行った。その結果、目視可能な直径 500 ~ 1,000 μm の共凝集体が形成された。グラム染色確認により 2 菌種で構成されていた。形成条件として複合培養液の pH は、4.5 以下が必要であった。また、大腸菌欠損株を用いて、関与遺伝子を探索した結果、本共凝集には線毛と LPS が関与していることが明らかになった。さらに、線毛と LPS の関連遺伝子欠損株を用いて詳細に検討した結果、線毛では *fimA*, *B*, *C*, *D*, *F*, *H*, *J* 及び *Z* が、LPS では *rfaC*, *D*, *E*, *G*, *H*, *P*, 及び *S* が共凝集体形成に関与することが示唆された。

**Characterization of co-aggregation between *Escherichia coli* and *Lactobacillus casei***

○Madoka Ishiba<sup>1</sup>, Masato Ishihara<sup>1</sup>, Kouhei Mizuno<sup>1</sup>, Yumi Usui<sup>2</sup>, Motoharu Tnaka<sup>2</sup>, Kayo Matumura<sup>2</sup>, Souichi Hurokawa<sup>2</sup>, Hirokazu Ogiwara<sup>2</sup>, Yasushi Morinaga<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Mat. Sci. Chem. Eng., Kitakyushu Natl. Col. Tech.,<sup>2</sup>Dept. Agric. Biol. Chem., Nihon Univ.)

**Key words** *Lactobacillus*, co-aggregation, *Escherichia coli*

**1Hp03 非ブタノール生産性退化株における *spo0A* 遺伝子の解析**

○依田 杏子<sup>1</sup>, 中山 俊一<sup>1</sup>, 吉野 貞蔵<sup>2</sup>, 古川 謙介<sup>3</sup>, 門倉 利守<sup>1</sup>, 中里 厚実<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東農大・応生・醸造,<sup>2</sup>九大院・農・生命機能,<sup>3</sup>別府大・食物栄養・発酵食品)  
s3nakaya@nodai.ac.jp

[目的] ブタノール生産菌 *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (以下 N1-4) の継代培養により、ブタノール生成能を失った退化株 (DGN3-4) が出現する。DGN3-4 はブタノール生合成遺伝子の転写が誘導されないことに加えて胞子形成能も失っている。他のブタノール生産菌において胞子形成開始における主要転写調節因子として機能する *spo0A* 遺伝子を破壊することでブタノール生成能を失うことが報告されていることから、本研究では退化株における *spo0A* を解析することで退化機構の解明を試みた。

[方法・結果] *spo0A* 遺伝子の配列解析を行った結果、DGN3-4 においてその orf 及びプロモーター領域に変異は確認されず N1-4 の *spo0A* と同一であった。そこで、ノーザンプロット解析により N1-4 と DGN3-4 の *spo0A* 転写量を比較した。その結果、N1-4 では全ての生育期において *spo0A* は転写されたのに対して、DGN3-4 では定常期以降転写されていなかった。退化株における定常期以降の *spo0A* 転写を回復させるために、構成的な発現を制御する *bdh* (butanol dehydrogenase) プロモーターにより *spo0A* を発現させたが、ブタノール生成は回復しなかった。これより、*spo0A* の転写の欠損が直接的な退化の原因ではない可能性が考えられ、*spo0A* 以外の他の因子が退化機構に関与することが示唆された。

**Analysis of *spo0A* in non-butanol producing degenerated strain**

○Kyoko Yoda<sup>1</sup>, Shunichi Nakayama<sup>1</sup>, Sadazo Yosino<sup>2</sup>, Kensuke Furukawa<sup>3</sup>, Toshimori Kadokura<sup>1</sup>, Atsumi Nakazato<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. ferment. Sci., Tokyo Univ. agric.,<sup>2</sup>Dept. Biosci. Biotechnol., Kyushu Univ.,<sup>3</sup>Dept. Food and fermentation science, Beppu Univ.)

**Key words** butanol, *spo0A*, degeneration, *Clostridium*