

(広島大・工・醸酵) 桂木能久, 杉山政則, 新見治

(目的) 本研究では、放線菌遺伝子の発現調節機構を *in vitro* で解析することを目的として、放線菌の無細胞抽出液を用いた試験管内転写-翻訳系の開発を行なった。

(方法及び結果) 本研究では *Streptomyces griseus* PSR-2 を使用した。菌体からのリボソーム、S-30 及び S-150 画分の調製ならびに *in vitro* 蛋白質合成能測定は杉山等の方法を用いた。本菌の S-30 画分や、S-150 画分とリボソームを組み合わせた系は高い蛋白質合成活性を有するが、それらの画分中には内在性の DNA が混在するために、プラスミド DNA 依存性の mRNA 合成能を直接測定することができない。そこで無細胞抽出液から内在性 DNA を除去することにより、外来性のプラスミドを錆型としたより高い RNA 合成活性を得るための条件検討を行なった。その結果、DNase I や micrococcal nuclease を用いた場合内在 DNA を除去することはできたが、添加した nuclease を失活させるのが難しく、その結果としてプラスミド由来の RNA 合成活性は著しく低かった。そこで、ポリエチレン glycole (PEG) を用いた内在性 DNA の除去を試み、ほぼ完全に除去することに成功した。本方法は、S-30 画分に最終濃度 3M 及び 10% になるよう NaCl と FEGG600-O を各々加え、遠心分離後得られた上清を硫酸アノニウム分画する方法である。得られた酵素標品 (CT 画分と命名) にプラスミドを加え *in vitro* RNA 合成を行なった結果、非常に高い RNA 合成活性が認められた。尚、この CT 画分は枯草菌や大腸菌のプラスミドをも転写することができた。さらにこの系に、リボソームを添加すると蛋白質が合成された。

1) Sugiyama H. et al., J. Antibiot. 34, 1183-1188 (1981)

Development of a coupled transcription-translation system in *Streptomyces griseus*.

Yoshihisa Katsuragi, Masanori Sugiyama and Osamu Nimi.

Dept. of Ferment. Technol., Faculty of Engineering, Hiroshima University

159 メタノール資化性菌の産生するバクテリオクロロフィル(第4報)

—膜画分の分離と光化学特性

(関西大・工) 采倉壽人・十田哲郎・福尾剛志・川手昭平, (基生研) 村田紀夫

1. 目的 *Pseudomonas sp.* 1580RM 菌株はメタノールを唯一の炭素源として好気的に生育するが、培養時における光照射条件を変化させることによりバクテリオクロロフィル (Bchl) を生成することを前回までに報告した¹⁾。そこで今回はこの Bchl が実際に光エネルギーを獲得し、光合成系の電子伝達に関与しているどうかを調べた。

2. 方法 培養方法 改良 MK5 培地 100ml (500ml 三角フラスコ), 30°C, 250 rpm 回転振盪培養。膜画分の調製 集菌後、0.3M ショ糖を含む 50mM リン酸塩緩衝液に懸濁しフレンチ・プレス (400 kg/cm^2) 处理により菌体を破碎。10,000×g, 15 min で遠心、上澄液をさらに 100,000×g, 120 min 遠心し沈殿物を膜画分として測定に用いた。分光光学的分析 吸収スペクトルは全て島津 UV-300 分光光度計を用いて測定した。キトクロム、Bchl の光酸化還元反応の作用光にはタンクスステン白熱灯の光をフィルターを通して用いた。

3. 結果 粗膜画分の吸収スペクトルには 800nm, 870nm に吸収帯が見られ、光化学反応中心及び集光 Bchl-タンパク質複合体 (LH1) が認められた。また粗膜画分の光照射による明暗差スペクトルの解析からキトクロム C 及び反応中心 Bchl の光酸化還元反応が確認された。これらの結果はこれまでに報告されている *Rhodopseudomonas sphaeroides* や *Erythrobacter sp.* のそれと非常によく似ていると考えられ、1580RM 菌株の粗膜画分においても光化学的電子伝達系が機能していることが認められた。

1). 昭和60年度日本醸酵工学会大会講演要旨集 p139

Bacteriochlorophyll Formation by Methanol Utilizing Bacterium Strain 1580RM (IV).
-Photochemical Activity of Membrane Fraction.

* Hisato Yonekura, Tetsuro Juta, Tsuyoshi Fukuo, Shohei Kawate (Faculty of Engineering, Kansai University), Norio Murata (National Institute for Basic Biology, Okazaki)