

- 167 植物細胞の液内培養において物理的なストレスが細胞に与える影響について  
(筑波大・応生化) °仙波 尚, 実剣哲也, 田中秀夫  
(筑波大・生物) 原田 宏

1)目的 植物細胞の大量培養が困難であることの一つの原因に、植物細胞が微生物細胞に比べはるかに大きいだけでなく、集塊を形成して増殖する傾向があり、しかも柔い細胞であるために、培養の際の酸素供給に伴う攪拌操作によって生じる剪断応力などの物理的なストレスの影響を受けることが知られている。従って、その物理的なストレスが細胞に与える影響を考慮することは、細胞の大量培養法を確立するために不可欠である。本研究では培養法の確立のための第一段階として、物理的なストレスが細胞に与える様々な影響を定量的に把握することを目的とした。

2)方法 *Catharanthus roseus* の培養細胞を用い、MS培地中で回転振盪培養を行った。物理的なストレスを与えるために、2枚のバフフルが付いたフラスコを用いて培養し、その結果をコントロールとしてバフフル無しのフラスコで培養した結果と比較検討した。

3)結果 ストレスを付加した培養条件では、コントロールに比べ細胞の増殖速度が大幅に遅れた。両条件で得られた細胞の形態観察では、顕著な違いが見られなかったが、細胞集塊のサイズ分布をコールターカウンターで測定したところ、ストレスを付加した条件では、コントロールに比べ小径の細胞集塊の比率の顕著な増加がみられた。さらに、細胞壁についての検討の結果、細胞壁構成成分には相違がなかったが、成分含量が異なっており、特にペクチン含量がストレスの付加により減少することが認められた。細胞壁の生化学的強度の一検討として、ドリセラージェを用いた細胞のプロトプラスト形成速度を比較した結果、ストレスを付加した場合、コントロールに比べ形成速度にかなりの遅れが見られた。

Effects of Physical Stress on Plant Cells in Suspension Cultures  
°Hisashi Semba, Tetsuya Jitsufuchi, Hideo Tanaka, Hiroshi Harada\*  
Institute of Applied Biochemistry, \*Institute of Biological Sciences,  
Tsukuba University, Ibaraki 305

- 168 組換え菌産生酵素に対するモノクローナル抗体の作製とその精製への利用  
(名大・工・化工,\*新潟大・工・化工) °上平正道, 谷口正之\*, 吉田 均,  
後藤寿一, 川窪一郎, 飯島信司, 小林 猛

1. 目的 遺伝子操作、細胞融合技術などの進歩に伴って、多くの有用な生化学物質の効率の良い生産が可能となり、その工業化が目指されている。しかし、生化学物質はその使用目的に応じ、高純度かつ大規模な精製法が開発されなければ実用に供することはできない。本研究では、*Bacillus stearothermophilus* 由来の耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子を組み込んだ大腸菌が生産する $\alpha$ -アミラーゼをモノクローナル抗体を用いたアフィニティクロマトグラフィーにより高純度に精製する方法を確立することを目的とした。

2. 方法 *B. stearothermophilus* 由来の $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子とpBR 322より作製されたプラスミド pHI 301 を有する *Escherichia coli* HB 101 を培養し<sup>1)</sup>、 $\alpha$ -アミラーゼを含む菌体を得た。菌体破砕液を熱処理後、セリウムにかけ $\alpha$ -アミラーゼを部分精製し、抗原として使用した。常法によりマウスのミエロマ細胞と脾細胞を融合し、 $\alpha$ -アミラーゼに対する抗体を産生するハイブリドーマを選択した。得られたハイブリドーマは主に無血清培地で培養し、モノクローナル抗体を調製した。

3. 結果  $\alpha$ -アミラーゼに対するモノクローナル抗体産生ハイブリドーマを4株取得した。抗体産生能の最も高い16-3F株を無血清培地で培養した結果、培養3日目まで50-100  $\mu\text{g/ml}$ の抗体を産生した。現在、得られたモノクローナル抗体を精製し、 $\alpha$ -アミラーゼの精製のためのリカンドとして利用することを検討中である。

- 1) S. Mizutani, S. Fukuzono, N. Tsukagoshi, S. Ueda and T. Kobayashi; J. Chem. Eng. Japan, 18, 220 (1985).

Preparation of the monoclonal antibody against  $\alpha$ -amylase and its application for purification of the enzyme  
°Masamichi Kamiyama, Masayuki Taniguchi\*, Hitoshi Yoshida, Juichi Goto, Ichiro Kawakubo, Shinji Iijima and Takeshi Kobayashi  
Nagoya University, \*Niigata University