

62 微生物

246

Ban制限・修飾系遺伝子のクローニング

(東洋紡績・敦賀酵素工場)

○川上文清, 佐伯由香利, 前川宜彦

1. 目的 Bacillus aneurinolyticus IAM 1077 は、BanI, II, III の3種の制限・修飾系を有する⁽¹⁾。我々は、この制限・修飾系について、生化学的、遺伝学的解析を目的とし、大腸菌へのクローニングを試みた。
2. 方法 Bacillus aneurinolyticus IAM 1077 の染色体DNAをSau3AIで部分分解後、アルカリフォスファターゼ処理したpBR322のBamHIサイトにT4リガーゼで連結し、大腸菌HB101に形質転換した。目的の形質転換株の選択は、アンピシリン耐性、プラスミドの制限酵素への抵抗性、及び制限酵素の生産性により行った。
3. 結果 約 1.6×10^4 個の形質転換株の中から、BanIに抵抗性を示すプラスミドを有し、かつBanI生産性を示す株が1株、BanIIIに抵抗性を示すプラスミドを有し、かつBanIII生産性を示す株が1株得られた。前者は、pBR322以外に3.7kbの断片を含むプラスミドを保持しており、このプラスミドをpBAN11と命名し、その制限酵素地図を作成した。また、後者は、pBR322以外に7.7kbの断片を含むプラスミドを保持しており、このプラスミドをpBAN31と命名し、その制限酵素地図を作成した。前者はBanI、後者はBanIIIのみを生産し、またその生産性は両者とも、Bacillus aneurinolyticus IAM 1077 の10倍以上であり、制限酵素の生産には極めて有利である。

(1) H. Sugisaki et al., Nucleic Acids Res., 10 5747 (1982)

247 Escherichia coli ヒドロゲナーゼ活性関連遺伝子のクローニングと構造解析

(三菱電機・中研) 磯田 悟, 上山明美, 前田満雄

1. 目的 水素生成および取り込み反応を触媒するヒドロゲナーゼの活性発現機構を、遺伝子、蛋白質レベルで解明するために、われわれの単離したヒドロゲナーゼ活性変異株¹⁾を用いて、遺伝子をクローニングした。各種変異株との相補性解析および遺伝子領域の解析結果について報告する。
2. 方法 変異株としてはF143 (E. coli 染色体地図上の57~62分の遺伝子領域を含む)との接合によりヒドロゲナーゼ活性を回復する6種の変異株(AS1003, 1004, 1005, 1009, 3004, 3005)を用いた。遺伝子のクローニングは、小原らの作成した遺伝子バンク(E. coli W3110の遺伝子のSau3A部分切断断片をベクタEMBL4のBamHI部位に挿入²⁾)のうち58~59分の領域内の遺伝子断片を各種含むバンクから、遺伝子断片を単離し、ベクタpUC13のEcoRI部位に組換えたプラスミドを用いて行った。
3. 結果 6種の変異株のうち3種(AS1004, 1005, 1009)は、14.8Kbの遺伝子断片を有するプラスミド(pAS1001)の導入によってヒドロゲナーゼ活性を回復したが、他の3種の変異株では活性の回復はみられなかった。pAS1001の制限酵素地図を作成し、サブクローニングを行った結果、2.9kbのSalI断片とそれに接続する4.2kbのSalI-HindIII断片に、ヒドロゲナーゼ活性に関連する遺伝子をそれぞれ含むと考えられるhyd B オペロンがコードされていることがわかった。

1) 小原ら, 昭和59年度 日本分子生物学会年会 要旨集 P51

2) U. Kohara, Cell, 50, 495 ('87)

Cloning and Structure Analysis of Genes Related to Hydrogenase Activity in Escherichia coli

○Satoru Isoda, Akemi Ueyama, and Mitsuo Maeda

Central Research Laboratory, Mitsubishi Electric Corporation