

温度感受性 P_R・P_L プロモーターによる Galactokinase の効率的生産

(名大、工、化工) ・ 川瀬優治、本多裕之、飯島信司、小林 猛

1. 目的 微生物により有用物質を大量に生産するには、菌体を高密度に培養することが有効な手段のひとつとされている。また遺伝子工学を用いて有用物質を誘導生産することにより更に生産性を向上することができる。その中でλファージ由来の P_R・P_L プロモーターは温度感受性の強力なプロモーターとして知られている。そこで本研究では遺伝子産物の効率的生産を目的とした高密度培養、および温度シフトによる効率的な誘導生産の条件を検討した。

2. 方法 菌株としてλファージ由来の P_R・P_L プロモーター、cI リプレッサー、及び Galactokinase 遺伝子を組み込んだプラスミド pRLK14 を有する *Escherichia coli* C600 を用いた¹⁾。試験管で培養特性を検討した後、1 L ジャーファーマンターを用いて、合成培地²⁾に必要な栄養源を逐時添加して培養を行なった。培養温度は 37℃ を用い、42℃ へ温度シフトすることにより遺伝子産物の誘導生産を行なった。

3. 結果 試験管レベルでは 37℃ 以下で遺伝子産物生産は完全に抑制され、42℃ で誘導生産された。それでジャーファーマンターを用いて 37℃ で培養し 42℃ での誘導生産を試みた。37℃ で OD₆₀₀ = 2.0 まで完全にリプレッションがかかり、42℃ へ温度シフトしたところ最終 OD₆₀₀ = 4.6、またその遺伝子産物である Galactokinase 活性は誘導後 3 時間で最大約 200 倍の増加が認められた。

1) Y. Murooka, I. Mitani: J. Biotechnol. 2, 303 (1985)

2) S. Mizutani et al.: Biotechnol. Bioeng., 28, 204 (1986)

Efficient expression of galactokinase gene from λ P_RP_L promoter

・ Yuji Kawase, Hiroyuki Honda, Shinji Iijima, Takeshi Kobayashi

Dept. of Chem. Eng., Nagoya University

遺伝子組換え菌の高濃度培養と tac プロモーターを用いた遺伝子産物の効率的生産

(名大、工、化工) ○河辺 智康・曾田 裕行・飯島 信司・小林 猛

〈目的〉遺伝子産物を効率的にかつ大量に生産するためには、強力なプロモーターの下流に遺伝子を連結し発現することや、さらに菌を高濃度に培養することが有効である。そこで本研究では tac プロモーターについて、遺伝子産物の効率的生産のための培養条件と高濃度培養について検討した。

〈方法〉菌株として Xylose isomerase 遺伝子を tac プロモーターの下流につないだプラスミドをもつ *E. coli* JM105/PKXX7 および *E. coli* B/PKXX7 を用いた。前者を使い試験管で炭素源や培地の影響を検討し、後者を使い 1L のジャーファーマンターで高濃度培養の検討を行なった。途中対数増殖期に遺伝子発現の誘導物質である IPTG を添加した。

〈結果〉LB、M9 両培地で炭素源をグルコース、ラクトース、グリセロールそしてキシロースと変えて培養し、途中で IPTG で誘導をかけた結果、遺伝子産物の生産はグルコースが最も良くまたグルコースによる阻害は観察されなかった。次にグルコース濃度を 2g/l に固定し培地を M9、LB、FB¹⁾、Gray-Tatum²⁾ と変えて培養を行なったところ Xylose isomerase の生産には Gray-Tatum 培地が最も適していた。Gray-Tatum 培地と FB 培地は構成成分がほぼ同じでその含有量が違う培地であるので、その中のどの成分が遺伝子発現に影響があるのか検討したところリンがその原因と考えられた。また合成培地 TK-25³⁾ を用いて、グルコース濃度を 20g/l 以下に制御して培養したところ OD₆₀₀ = 162 という高濃度培養を達成した。

1) S. Mizutani et al.: Biotechnol. Bioeng., 28, 204 (1986)

2) 松井ら: 平成元年度農芸化学大会要旨集, p. 330

High density cultivation and efficient expression of a tac-promoter controlled gene

○Tomoyasu Kawabe, Hiroyuki Sota, Shinji Iijima, Takeshi Kobayashi (Dept. of Chemical Engineering, Nagoya Univ.)