

- Trans. Mycol. Soc. Japan*, 27, 387 (1986).
- 38) Hamamoto, M., Sugiyama, J., Komagata, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 215 (1986).
 - 39) Hamamoto, M., Sugiyama, J., Goto, S., Komagata, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 89 (1986).
 - 40) Nakase, T., Suzuki, M.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 251 (1986).
 - 41) Nakase, T., Suzuki, M.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 225 (1986).
 - 42) Nakase, T., Suzuki, M.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 149 (1986).
 - 43) Nakase, T., Suzuki, M.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 125 (1986).
 - 44) 加藤司郎, 中瀬 崇: 日食工誌, 33, 659 (1986).
 - 45) Wijeyaratne, S. C., Ohta, K., Chavanich, S., Mahamontri, V., Nilubol, N., Hayashida, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 827 (1986).
 - 46) Okuma, Y., Endo, A., Iwasaki, H., Ito, Y., Goto, S.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 379 (1986).
 - 47) 高田正樹, 宇田川俊一, 法月克弘: 日菌報, 27, 415 (1986).
 - 48) Ohmasa, M., Furukawa, H.: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 27, 79 (1986).
 - 49) Suzuki, M., Nakase, T.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 165 (1986).
 - 50) Smith, M. Th., Batenburg-van der Vegte, H.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 549 (1986).
 - 51) Manoch, L., Payapanon, A., Tubaki, K., Sato, S.: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 27, 257 (1986).
 - 52) Morinaga, T., Kanda, S., Nomi, R.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 451 (1986).
 - 53) Chen, W. P., Matsuo, M., Yasui, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1183 (1986).
 - 54) Sasaki, H., Kurosawa, K., Takao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1661 (1986).
 - 55) Tani, Y., Vongsuvanlert, V., Kumnuanta, J.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 405 (1986).
 - 56) Shinmen, Y., Asami, S., Amachi, T., Shimizu, S., Yamada, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 247 (1986).
 - 57) Cutler, H. G., Cole, P. D., Arrendale, R., F. Bassfield, R. L., Cox, R. H., Roberts, R. G., Hanlin, R. T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2667 (1986).
 - 58) 古谷航平, 奥平美穂: *Bull. JFCC*, 2, 1 (1986).

(理研 中瀬 崇)

12. 遺伝子操作・フェージ

Gene Manipulation・Phage

Alcaligenes denitrificans TK7 と *Pseudomonas aeruginosa* OL1 のリパーゼ遺伝子 (*lip*) を RP4::Mu プラスミドで *E. coli* JA 221 に伝達した。異種遺伝子を持つ組み換え体は、供与菌の 80~115% のリパーゼ活性を示した。*A. denitrificans* TK7 の *lip* を pBR 322 にクローン化し、2 種の組み換えプラスミドを得た。このうちの一つは、*E. coli* に 16~20 倍のリパーゼ生産機能を付与した。¹⁾

E. coli K 12C 600 株とプリン感受性変異体 PS 100 (*pyrE* に変異をもつ) の双方より、オロチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ (OPTase) 遺伝子 (*pyrE*) を含む 2.0 kb DNA を pBR 322 にクローン化し、pNE 24 と pNE 31 を得た。K12 株に導入すると OPTase 量が 30~80 倍に上昇した。*E. coli* の粗酵素抽出液を用いたオロチン酸のオロチジンモノリン酸への変換反応において、pNE 24 の導入は高い変換効率を得るうえで有効であった。²⁾

Saccharomycopsis fibuligera の遺伝子ライブラリーより *S. cerevisiae* を酸性プロテアーゼ分泌性に形質転

換するプラスミドを取得した。*S. cerevisiae* 形質転換体から生産される酸性プロテアーゼと *S. fibuligera* の酸性プロテアーゼに差異は認められなかった。クローン化 DNA は *S. fibuligera* 由来と確認された。³⁾

Zymomonas 細菌に *E. coli* 由来ラフィノース資化性遺伝子 (*raf*) を組み換えプラスミド pRRL1 で導入した。*raf* を担う pOD 1188 と R 68.45 を *E. coli* 中で共存させるなど、生体内組み換えで連結する。*raf* は *Zymomonas* 菌内では下安定であった。⁴⁾

B. subtilis 菌体外エンド型セルラーゼ遺伝子をプラスミド pBO 64 にクローン化し、pBC 5 を得た。*B. subtilis* RM 141 へ形質転換するとセルラーゼを過剰生産した。サブクローン化した pBRC 5 を *E. coli* JM 105 に形質転換すると酵素はペリプラズム、培養上澄に生産された。⁵⁾

マウス顎下腺レニン構造遺伝子全体を含む cDNA を持つ pMR 226 を単離した。*E. coli trp E* との融合 DNA, プロレニン DNA を構築し、*E. coli trp* プロモーター下流に組み込んだ。両プラスミドとも *E. coli*

において抗マウスレニン抗体と交差するタンパク質を合成した。プロレニンはトリプシン処理によりレニンの酵素活性を示し、抗マウスレニン抗体などで阻害された。⁶⁾

STA 1 遺伝子を持つ *Saccharomyces diastaticus* を嫌気培養し、培養上澄からグルコアミラーゼを精製した。本酵素のタンパク部分の分子量は80Kで、分子量70KのN結合型糖鎖と分子量100Kの未同定物質が付加していた。DNA塩基配列ではN末端アミノ酸は33番目に始まる。32残基のシグナルペプチドを含むDNA領域と *E. coli* β -ラクタマーゼ遺伝子の融合を行い、酵母に導入すると β -ラクタマーゼを培地中に分泌した。⁷⁾

lac あるいは *trp* プロモーターにプロキモシン cDNA を連結した pCR 301 および pCR 501 を持つ *E. coli* は、N末端に数個のアミノ酸残基を付加した融合タンパクとしてプロキモシンを効率よく生産する。メチオニルプロキモシン生産用の pCR 701 は生産性が低い、SD-ATG 間を 8bp とした pCR 712 は効率が良くなった。⁸⁾

ポリペプチドの大量生産に多コピープラスミドを利用するより、誘導のかかる強力なプロモーターの下流につないで染色体に組み込む方が、再現性と菌株保持の手間の点で有利であることを *rec* タンパク生産モデルで比較して示した。⁹⁾

好熱菌 *Thermus flavus* のリンゴ酸脱水素酵素遺伝子のクローン化を行った。*E. coli* にて耐熱性リンゴ酸脱水素酵素活性を有する組み換え体を得た。生産酵素は *T. flavus* とのものと同一であると結論した。¹⁰⁾

ヒトリゾチーム遺伝子を化学合成した。本遺伝子は λ PrPL プロモーター支配下に *E. coli* で発現した。産物は菌体内で不溶性物質であるが、変性剤による可溶化、再編成により *M. lysodeikticus* 菌体に対する溶菌活性を発現した。¹¹⁾

Zymomonas mobilis ATCC 10988 の潜在性プラスミド pZM 3 を、*E. coli* プラスミドの pACYC 184 に3種類の異なった制限酵素切断部位で連結して 7.9 kb の pZA 31 (Tc^r), pZA 32 (Cm^r), pZA 33 (Cm^r) を作製した。ヘルパープラスミド pRK 2013 を用いると *E. coli* から *Z. mobilis* へ約 10^{-6} ~ 10^{-7} の頻度で接合伝達される。また *Z. mobilis* から *E. coli* へ修飾されることなく再導入できる。¹²⁾

Rhizopus 属の生デンプン分解性グルコアミラーゼ (GA) 遺伝子を染色体 DNA および cDNA からクロ

ーン化した。塩基配列を解析した結果、4個のイントロンを有し、604個のアミノ酸より成る。染色体由来の GA 遺伝子はイントロンがあるため酵母中では発現しない。cDNA 由来の GA 遺伝子と組み換え、酵母中で発現させた。これは GA のプロモーター、シグナルペプチドが酵母でも有効に機能することを示す。¹³⁾

E. coli W KY 8366 のスレオニン生産性を高める目的で、 α -アミノ β -ヒドロキシ吉草酸耐性株よりクローン化した、スレオニンオペロンを含有するプラスミド pGH2B1 を導入した。KY 8366 のアスパルトキナーゼ I のレベルは約 4.5 倍に、スレオニン生産も約 20% 上昇した。¹⁴⁾

好アルカリ性 *Aeromonas* no. 212 由来のキシラナーゼ L 遺伝子を、pBR 322 にクローン化した pAX1 を *E. coli* に導入した。キシラナーゼ活性はペリプラスムおよび細胞質画分に局在し、菌体外に分泌されない。分泌ベクター pEAP2 にクローン化すると、キシラナーゼのほとんどは菌体外分泌となる。¹⁵⁾

化学合成 α -ネオエンドルフィン (α NE) 遺伝子を *S. cerevisiae* の抑制型酸性ホスファターゼ (APase) 遺伝子 *PHO5* と融合し、クローンを3種得た。雑種遺伝子は APase のC末端6~17%が α NE と置き変わっている。*PHO5* の制御下に、細胞当たり 10^6 分子の α NE が生産され、そのほとんどがプロトプラスト分画中に存在した。¹⁶⁾

Tn 903 のカナマイシン (G 418) 耐性遺伝子を含むプラスミドを用いて *S. carlsbergensis* の形質転換を試みた。全体に *S. carlsbergensis* は *S. cerevisiae* に比べて形質転換頻度は低い。プラスミド保持安定性は複製起点により影響をうける。¹⁷⁾

E. coli において完全な制御下で遺伝子を発現させ、産物を分泌するプラスミドを構築した。5個の *trp* プロモーターに *omp F* シグナルペプチド領域、Trp リプレッサー遺伝子 *trpR* より成る、 β -エンドルフィン遺伝子を挿入すると、その産物を培地に分泌できた。¹⁸⁾

Cd²⁺, Zn²⁺ 耐性を強化する遺伝子を含む組み換えプラスミドを得た。これを含む形質転換体酵母は、含まない酵母より高い重金属耐性を示すので、この組み換えプラスミドは選択マーカーとして利用できる。¹⁹⁾

D-グルコサミンとそのリン酸塩によるプラスミド pBR 322 の DNA 切断は、アミノ糖類の水溶液中での自動酸化により生成したラジカル種により起こるこ

とを示唆する結果を得た。²⁰⁾

Zygosaccharomyces baili IFO 0488 から得た ccc-DNA から 10 kb の *Sal* I 断片をクローン化した。*S. cerevisiae* および *Z. rouxii* で働く *ARS* をもち、rDNA プラスミドに由来する。酵母の属間遺伝子交換に用いるベクターの素材になりうる。²¹⁾

イネ根圏の窒素固定菌 *Klebsiella oxytoca* NG 13 の *nifA* を pACYC 184 にクローン化した。*nifA* が Tc^r プロモーターによって構成的に発現し、*K. oxytoca* NG 13, *K. pneumoniae* UNF 714 に導入すると、アンモニア存在下でも窒素固定能が発現する。*Azospirillum lipoferum* に RSF 1010 を介して導入すると活性化がみられた。²²⁾

不溶性ピリジニウム型高分子の橋かけポリ-N-ベンジル-4-ビニルピリジニウムブロミドが、水中のファージ T4 を吸着する著しく優れた能力を有することを見出した。吸着された T4 ファージは抗菌活性を保持していた。²³⁾

B. subtilis の *tmrA7-amyR-amyE⁺-tmrB⁺-aroI⁺* を含む 22.4 kb DNA 断片をファージ ρ11 にクローン化し、ρ11-AA248 を得た。*amyE* の増幅がファージゲノム中においても起こり、これが *recE⁺* と密接に関係していることを示した。²⁴⁾

XMP の GMP への転換を触媒する XMP アミナーゼを *E. coli* で強化するため、*gua* オペロンにより *guaA* を単離し、その上流に *trp* プロモーターを接続して pXAR33 を造成した。保有株は野生株と比較し、XMP アミナーゼ活性が約80倍増大した。²⁵⁾

E. coli の N-アセチルノイラミン酸リアーゼ遺伝子を含む約 1.3 kb DNA 断片の全塩基配列を決定した。891 bp の唯一の読み取り枠から推定されるアミノ酸組成は、精製酵素のアミノ酸分析の結果とほぼ一致した。N 末15アミノ配列は、N末端 Met を除き完全に一致した。²⁶⁾

B. subtilis no. 313 の染色体 DNA を *Sau* 3A1 で部分分解し、pBR 322 に連結して *E. coli* HB101 を形質転換した。10,000株より γ-CGTase 活性を有する4株を選んだ。クローン化された 3.4 kb DNA は *B. subtilis* 由来であり、サブクローン化で 2.8 kb とした。生成サイクロデキストリンは γ 型のみであり、*B. subtilis* no. 313 の γ-CGTase の作用と同じであった。²⁷⁾

γ-ポリグルタミン酸生産能をもつ *B. subtilis* IFO 3022 のプラスミド pLS 11 と納豆菌プラスミド pUH1

は、ヘテロ二重鎖 DNA 作製により、1.11 kb, 2.14 kb の相同性の極めて高い領域が2か所存在していることがわかった。²⁸⁾

放線菌プラスミドベクター pIJ 365 とアクティノファージ R4 から造成したコスミドベクター CpR4C1 を用いた、*Streptomyces parvulus* への形質導入においては、R4 ファージ増殖を抑える条件で頻度が上昇する。*S. lividans* では *S. parvulus* より頻度が高く、最適条件下では活性ファージあたり 3×10^{-3} であった。²⁹⁾

Brevibacterium lactofermentum (*B. l.*) のトリメトプリム (Tnp) 耐性変異株染色体由来の Tnp^r ジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子を、*B. l.* の潜在性プラスミド pAM 330 に組み込み、Tnp^r をマーカーとするベクター pAJ228 を造成した。pAJ 288 を改良し、多機能ベクター pAJ 224 を得た。マルチプルクロニング部位の両側にプロモーターを互いに内向きに連結したので、挿入遺伝子の方向にかかわらず発現可能である。³⁰⁾

B. lactofermentum 由来のプラスミド pAM 330 の全塩基配列を決定した。8個の ORF があり、プロモーター、SD 配列、ターミネーター様の配列は *E. coli* に類似していた。プロモーター活性を確認することにより、転写、翻訳様式も類似していることを明らかにした。³¹⁾

Pediococcus pentosaceus のグルタミン酸ラセマーゼ遺伝子を pBR 322 に連結し、*E. coli* の L- および D-グルタミン酸窒化能の差と酵素活性染色法を利用して、発現クローンを分離した。*P. pentosaceus* の酵素と同一であった。³²⁾

B. subtilis の初期孢子形成遺伝子の一つ、*spoOF* 遺伝子を λP_R プロモーター支配発現ベクターに組み込み、*E. coli* HB 101 株で発現させ、産物を精製した。孢子形成遺伝子産物としては最初の例である。³³⁾

Zymomonas 細菌のプロモーター検索用ベクターを作成するため *E. coli* プロモーター検索用ベクター pMC 1403 よりプロモーター領域を欠く Δ*lac* を切り出し、シャトルベクター pZA 32 に挿入して pZL 1 を造成した。これを用いてショットガンクローニング法により、染色体由来のプロモーター DNA を分離した。³⁴⁾

Zymomonas 細菌の形質転換をシャトルベクター pZA 31, pZA 32, pAZ 33 を用いて検討した。この菌のコンピテント化には細胞壁合成阻害剤、ペニシリン

Gやサイクロセリンによる短時間の処理が必須であった。³⁵⁾

Zymomonas mobilis と *E. coli* 間のシャトルベクター pZA 22 を造成した。この pZA 22 は、ヘルパープラスミド pRK 2013 を用いると、*E. coli* より *Z. mobilis* へ約 10^{-6} の頻度で伝達される。pZA 32 の 2～3 倍のコピー数をもつ。³⁶⁾

2 個の *lac* プロモーターをパリンドローム状にプラスミドに構築した。I は尾と尾を接続し、II は頭と頭、III は異種 DNA をその間に挿入した。I は *E. coli* の野生株で増幅せず、*rec B*, *rec C*, *sbc B* *rec F* で増幅する。III は野生株で増幅し、挿入断片を取り出すのに都合の良いベクターである。³⁷⁾

末端にタンパク質のある DNA を持つ *Bacillus* 属小型ファージ、 $\phi 29$, $\phi 15$, Nf, M2Y, GA-1 を比較し、3 群に分けた。A 群 ($\phi 29$, $\phi 15$), B 群 (Nf, M2Y), C 群 (GA-1) である。頭部の主タンパク質のペプチド地図は、Nf と M2Y が類似するのにに対し、GA-1 は他と関係がない。A と B は地図は異なるが、全体構成はよく似ている。³⁸⁾

一連の、*B. subtilis* プロモーター検索用ベクターを、 $\phi 105$ にプロモーターを欠くアミラーゼ遺伝子を導入することで開発し、*B. licheniformis* の染色体より強力なプロモーターをクローン化した。さらに pVB 110 の *kan* 遺伝子の転写方向をも決定した。³⁹⁾

B. subtilis のクローン化系としての $\phi 105$ を用いるプロファージ形質転換法を、*Cm^r* マーカー遺伝子を導入することにより一次選択に便利のように改良した。また溶原菌の形質転換効率を、非誘導変異株を用いて約 10 倍増強する改良を加えた。⁴⁰⁾

イネ水田より単離したらん藻 *Gloeocapsa* sp. は、好気下に N_2 を固定する。Machete あるいは Basalin により生育阻害を受けない耐性株を EtBr 処理することにより、両者への耐性を失い、しかも復帰不能の感受性株を分離した。これらの耐性遺伝子はプラスミド由来の可能性が高い。⁴¹⁾

タイの “thua nao” からポリグルタミン酸生産性の、*Bacillus* 細菌を 4 株単離した。これらは分子量、制限酵素パターンのそれぞれ異なるプラスミドを、1 個ずつ持っており、*B. subtilis* (*natto*) のポリグルタミン酸合成遺伝子を持つプラスミド pUH1 と強く交雑した。共通の祖先型をもつと考えられる。⁴²⁾

M2 ファージ DNA の複製中間体を [3H] チミジンラベルし、その複製型式を調べた。その結果、両端の

親 1 本鎖を置き換えて進行することがわかった。⁴³⁾

パリンドローム構造を持つプラスミドは、その単位長が 184 bp では *E. coli* 野生株では増えない。95 bp 以下ならば増える。電子顕微鏡観察でパリンドロームは十字型をしていた。184 bp 以上のパリンドロームを含むプラスミドも *E. coli* の *rec B*, *rec C*, *sbc B*, *rec F* では増えるが、欠損が起こった。⁴⁴⁾

λ dv の *pRoR-tof* を *lacPO-lacI* に置き換えた pL1OP3 を造成した。pL1OP3 は *E. coli* *polA* 株で増殖しない。ヒドロキシルアミン処理で増殖する変異株を得た。これは *lacPO* に 2 塩基置換があった。 λ の複製起源のみを持つ pLm13 と名づけた。⁴⁵⁾

コリシンプラスミド pKY-1 の制限酵素地図を作製した。ColE1 とは完全に異なっていたが、*cea**, *imm**, *ori* の構成は同じであった。*cea**, *imm**, *kil**, *ori* の塩基配列を決定、*ori* が ColE1 と類似と認めた。配列から推定される RNAI は ColE1 と CloDF13 のハイブリッドであった。⁴⁶⁾

ヒト F_1 -ATP アーゼの活性中心と考えられる β サブユニット cDNA のクローニングを、発現ベクター λ gt11 を用いた HeLa 細胞 cDNA ライブラリーより、抗酵母 $F_1\beta$ 抗体を用いて行った。全構造遺伝子とその前後を含む DNA 塩基配列を決定した。T5 プロモーター下流に接続すると、大腸菌内でリーダーペプチドを含む前駆体として発現した。⁴⁷⁾

大腸菌プラスミド ColE2, ColE3 の lysis 遺伝子の塩基配列を決定した。両者は同一で分子量 4,861 と推定された。遺伝子産物のゲル電気泳動もこの結果を支持した。遺伝子のアミノ酸配列で中央部 20 残基弱のペプチドが機能に必須であり、CloDF13, ColE1 の相当遺伝子との相同性が高く、進化過程での強い保存を示唆した。⁴⁸⁾

イヌおよびラットの膵臓 cDNA ライブラリーをそれぞれ作成し、ホスホリパーゼ A_2 の完全鎖長 cDNA クローンを単離した。塩基配列決定の結果、ブタ、ウシ、ヒトなどの酵素のアミノ酸配列との類似性を認めた。⁴⁹⁾

ラットチトクロム p450cDNA を組み込んだ酵母発現プラスミド pAMC1 と pJMC1 で、それぞれ *S. cerevisiae* AH 22 株を形質転換した。p450 タンパク質の発現量は pJMC1 が pAMC1 の約 2 倍、7-エトキシマリリン *o*-脱エチル化活性は 1.7 倍、アセトアニリド *p*-水酸化活性は 1.5 倍高かった。⁵⁰⁾

単純ヘルペスウイルス (HSV) 2 型 DNA のクローニングを、pACYC184 を用いて行った。*Hind*III 完全

処理の分子量約 $22 \times 10^6 \sim 1.2 \times 10^6$ の 10 フラグメントを組み込んでも、大腸菌 HB101 で安定に複製した。⁵¹⁾

S. cerevisiae のエノラーゼ I 遺伝子 (*ENO1*) のプロモーター領域を化学合成した。天然型以外に TATA と転写開始点の間の CT ブロックが、32, 34bp 長い変異プロモーターを得た。大腸菌の *lacZ* との融合で検討したが、発現に顕著な差はなかった。転写開始点にも差はない。⁵²⁾

大腸菌 II 群 RNA フェージ GA の全ゲノム塩基配列を決定して I 群 MS2 と比較、その近縁性を検討した。GA ゲノムは 3,466 塩基である。3 種遺伝子を含む両末端に非翻訳領域がある。全体として MS2 に非常に類似している。⁵³⁾

枯草菌 α アミラーゼ遺伝子のプロモーターおよびシグナルペプチドをコードする DNA 領域を用い、分泌ベクターとした。*B. amyloliquefaciens* の α -アミラーゼのプロモーター、リボゾーム結合部位などを、枯草菌のアミラーゼのプロモーター直下に連結し、タンデムプロモーターとした。⁵⁴⁾

大腸菌ヘリカーゼ II の構造遺伝子である、*nurD* 遺伝子を含む約 3 kb の DNA 塩基配列を決定した。既報の結果と比較すると、14箇所の相違点があった。ヘリカーゼ II タンパク質を精製してアミノ酸組成と比較し、よい一致を認めた。*uvrD* タンパク質は 720 のアミノ酸より成る。⁵⁵⁾

ラット膵臓エラスターゼ I DNA をプローブとして、ブタ膵臓エラスターゼ I の cDNA をクローニングした。塩基配列より推定したアミノ酸配列は、85% の相同性があった。 β -ガラクトシダーゼとの融合タンパク質を大腸菌で発現させ、酵素学的、免疫学的にエラスターゼ活性を認めた。⁵⁶⁾

常染色体優性の遺伝形式をとる家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) では、プレアルブミン (PA) の 1 アミノ酸残基が置換している。マウス肝由来の遺伝子ライブラリーから全 PA 遺伝子を含む DNA 断片をクローンし、その塩基配列構造を解析した。PA 遺伝子がどの臓器で発現するのかを RNA ブロット法で調べ、肝臓、腎臓、脳に PAmRNA を見出した。⁵⁷⁾

カプトガニコアギューゲンの cDNA をクローン化し、その構造解析を行った。コアギューゲンは血球細胞中で 20 残基のシグナルペプチドをもったプレ体として合成され、175 残基タンパク質として貯蔵される。⁵⁸⁾

ヒトプロレニン DNA を血液凝固因子 Xa の切断配列を介して *trpE* に接続し、*trp* プロモーターにより発現する融合タンパク質からプロレニンを分離できるようにした。大腸菌 HB101 で、全菌体量の約 30% の不溶性融合タンパク質が生産された。6M グアニジン塩基で溶解、透析により可溶化し、Xa 因子切断でプロレニンを分離した。さらにトリプシン処理してレニン活性を検出した。ヒト由来のプロレニンと生化学的、免疫学的に同様の性質である。⁵⁹⁾

シビレエイ Na, K-ATPase α サブユニット cDNA をプローブとして、ヒト Na, K-ATPase の α サブユニットを HeLa 細胞 cDNA ライブラリーより、クローン化した。塩基配列の決定から 1,023 アミノ酸から成り、シビレエイと 87%、ヒツジと 98% の相同性を示した。⁶⁰⁾

ヒト遺伝子ライブラリーより、ラット OTCcDNA をプローブとして、ラット OTCcDNA およびヒトオルニチントランスカルバミラーゼ遺伝子 (OTC) を含む領域をクローンし、これらをクローンしたゲノム DNA 断片を用い、10 種のクローンに分類した。これらは 85 kb の領域にまたがり、そのうちの一つは OTC 遺伝子の 5' 端を含むクローンであった。CAAT, TATA ボックスのほか、エンハンサー様 DNA 配列を見出した。⁶¹⁾

PMA と ConA で刺激したヒト T 細胞ハイブリドーマ (AC5-8) cDNA ライブラリーより、ヒトリンホトキシン (LT) cDNA をクローン化した。一次構造を決定し、ヒト末梢リンパ球由来の LTcDNA と比較したところ、全体で 14 塩基の相違が 4 箇所の部分配列にあった。発現ベクターで大腸菌と COS 細胞のどちらにも活性 LT 分子を認めた。C 末端あるいはそれ以下のアミノ酸残基が活性に必須である。⁶²⁾

フェノバルビタール処理したウサギ肝より mRNA を精製した後、cDNA ライブラリーを調製し、ラット Fp₂cDNA をプローブとして完全長 cDNA をクローン化した。39,125 bp の非翻訳領域に挟まれて、2,037 bp の翻訳領域が見出され、これよりウサギ酵素はラット酵素より 1 アミノ酸残基多い 679 アミノ酸残基からなることが明らかとなった。構造相同性は 90% で、FAD, FMN の結合に関与すると考えられる配列も、よく保存されていた。⁶³⁾

マウステトラカルシノーマ OTT 6050 由来の F9 細胞が分化する過程で、発現が減少するポリ (A)⁺RNA に対する cDNA を、異なる 6 個にクローン化した。

これらのクローンは未分化 F9 細胞にレチノイン酸およびジブチリル cAMP 添加後の発現変化で2群に分類された。⁶⁴⁾

ラットアルドラーゼB遺伝子および近傍の DNA メチル化を *Hpa* II, *Hha* I 認識部位シトシンで調べた。認識部位15箇所のうち3'側半分と3'近傍では、発現とは無関係に強くメチル化されるが、5'側半分と5'近傍では発現と相関性があり、メチル化により発現に抑制があった。⁶⁵⁾

α_2 プラスミンインヒビター (α_2 PI) 遺伝子を、既知のアミノ酸配列に対応する合成 DNA をプローブとし、 α_2 PI 産生細胞 HepG2 から抽出した mRNA を鋳型として作成した cDNA ライブラリーよりクローン化した。最も長い cDNA クローンは 1.7 kb あり、約 2.4 kb の α_2 PI mRNA の70%に相当する。塩基配列により α_2 PI タンパク質の約55%に相当するC末端274 アミノ酸を推定し、血漿プロテアーゼインヒビターファミリータンパク質と比較し、 α_2 PI 特有の構造を見出した。⁶⁶⁾

フェージ J1 のアスコルビン酸による不活性化はグリシンで促進されるが、L-リジン、L-グルタミン酸でも同様の作用があった。これはグリシンの場合と同様に OH・ラジカルの発生を促進すると考えられる。D-アミノ酸でも同じ効果がある。⁶⁷⁾

Bacillus aneurinolyticus のプラスミドの分布をしらべた結果、20中11株に種々の分子量をもつプラスミドを認めた。プラスミドの宿主に与える形質を、消去株で検討したが、今のところ潜在性に留まっている。⁶⁸⁾

pBR 322 を用い凍結融解の影響を *in vivo*, *in vitro* で検討した。pBR 322 保有の *E. coli* C 600 を各種溶液、温度で凍結融解を繰り返すと、生残率は低下するが薬剤耐性はほぼ100%保った。pBR 322 そのものは形質転換率が低下した。⁶⁹⁾

文 献

- Odera, M., Takeuchi, K., Toh-e, A.: *J. Ferment. Technol.*, **64**, 363 (1986).
- Shimosaka, M., Fukuda, Y., Murata, K., Kimura, A.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 9(1986).
- Yamashita, I., Hirata, D., Machida, M., Fukui, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 109 (1986).
- Kosugi, N., Okamoto, T., Yanase, H., Tonomura, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 209 (1986).
- Koide, Y., Nakamura, A., Uozumi, T., Beppu, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 233 (1986).
- Masuda, T., Nakano, E., Hirose, S., Murakami, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 271 (1986).
- Yamashita, I., Suzuki, K., Fukui, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 475 (1986).
- Kawaguchi, Y., Yanagida, N., Uozumi, T., Beppu, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 499 (1986).
- Makino, O., Sato, T., Shibata, T., Ando, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 501 (1986).
- Iijima, S., Uozumi, T., Beppu, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 589 (1986).
- Muraki, M., Jigami, Y., Tanaka, H., Harada, N., Kishimoto, F., Agui, H., Ogino, S., Nakasato, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 713 (1986).
- Tonomura, K., Okamoto, T., Yasui, M., Yanase, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 805 (1986).
- Ashikari, T., Nakamura, N., Tanaka, Y., Kiuchi, N., Shibano, Y., Tanaka, T., Amachi, T., Yoshizumi, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 957 (1986).
- Mizukami, T., Yagisawa, M., Oka, T., Furuya, A.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1019 (1986).
- Kato, C., Ohkoshi, A., Kudo, T., Horikoshi, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1067 (1986).
- Oshima, T., Arima, K., Matsubara, K., Tanaka, S., Nakasato, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1161 (1986).
- Sakai, K., Yamamoto, M.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1177 (1986).
- Itoh, M., Aiba, H., Inokuchi, K., Mizuno, T., Nagahari, K., Munakata, K., Mizushima, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1295 (1986).
- Fukuda, Y., Saikusa, T., Watanabe, K., Shimokawa, M., Murata, K., Kimura, A.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1341 (1986).
- Watanabe, K., Kashige, N., Nakashima, Y., Hayashida, M., Sumoto, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1459 (1986).
- Sugihara, K., Ohishi, K., Toh-e, A.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1503 (1986).
- Uozumi, T., Wang, P.-L., Tonouchi, N., Nam, J. H., Kim, Y. M., Beppu, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1539 (1986).
- Kawabata, N., Hashizume, T., Matsumoto, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1551 (1986).
- Furusato, T., Yamane, K., Hashiguchi, K., Tanimoto, A., Harada, S., Mori, M., Yoda, K., Yamasaki, M., Tamura, G.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1771 (1986).
- Maruyama, A., Nishi, T., Ozaki, A., Ito, S., Fujio, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1879 (1986).
- Kawakami, B., Kudo, T., Narahashi, Y., Horikoshi, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2155 (1986).
- Kato, T., Horikoshi, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2161 (1986).
- Hara, T., Ishizaki, A., Ueda, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2391 (1986).

- 29) Morino, T., Takagi, K., Nakamura, T., Takita, T., Saito, H., Takahashi, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2493 (1986).
- 30) Takagi, H., Morinaga, Y., Miwa, K., Nakamori, S., Sano, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2597 (1986).
- 31) Yamaguchi, R., Terabe, M., Miwa, K., Tsuchiya, M., Takagi, H., Morinaga, Y., Nakamori, S., Sano, K., Momose, H., Yamazaki, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2771 (1986).
- 32) Nakajima, N., Tanizawa, K., Tanaka, H., Soda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2823 (1986).
- 33) Oda, M., Isaka, M., Murooka, Y., Nomi, R., Yoshikawa, H., Kawamura, F., Saito, H., Kobayashi, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2845 (1986).
- 34) Yanase, H., Kurii, J., Tonomura, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2959 (1986).
- 35) Yanase, H., Kotani, T., Tonomura, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 3139 (1986).
- 36) Misawa, N., Okamoto, T., Nakamura, K., Kitamura, K., Yanase, H., Tonomura, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 3201 (1986).
- 37) Nakamura, Y., Yoshimura, H., Yoshino, T., Higashi, M., Hase, T., Yamaguchi, K., Masamune, Y.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 13 (1986).
- 38) Yoshikawa, H., Elder, J. H., Ito, J.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 39 (1986).
- 39) Seki, T., Yoshikawa, H., Kawamura, F., Kazami, J., Saito, H.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 67 (1986).
- 40) Seki, T., Miyachi, H., Yoshikawa, H., Kawamura, F., Saito, H.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 73 (1986).
- 41) Singh, L. J., Tiwari, D. N., Singh, H. N.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 81 (1986).
- 42) Hara, T., Chetanachit, Fujio, Y., Ueda, S.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 241 (1986).
- 43) Matsumoto, K., Hirokawa, H.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 343 (1986).
- 44) Yoshimura, H., Yoshino, T., Hirose, T., Nakamura, Y., Higashi, M., Hase, T., Yamaguchi, K., Hirokawa, H., Masamune, Y.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 393 (1986).
- 45) Hase, T., Saito, J., Higashi, M., Yamaguchi, K., Masamune, Y.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 405 (1986).
- 46) Higashi, M., Hata, M., Hase, T., Yamaguchi, K., Masamune, Y.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 433 (1986).
- 47) Ohta, S., Kagawa, Y.: *J. Biochem.*, 99, 135 (1986).
- 48) Toba, M., Masaki, H., Ohta, T.: *J. Biochem.*, 99, 591 (1986).
- 49) Ohara, O., Tamaki, M., Nakamura, E., Tsuruta, Y., Fujii, Y., Shin, M., Teraoka, H., Okamoto, M.: *J. Biochem.*, 99, 733 (1986).
- 50) Sasaki, T., Oeda, K., Yabusaki, Y., Ohkawa, H.: *J. Biochem.*, 99, 741 (1986).
- 51) Tsurumi, T., Maeno, K., Nishiyama, Y.: *J. Biochem.*, 99, 981 (1986).
- 52) Jigami, Y., Toshimitsu, N., Fujisawa, H., Uemura, H., Tanaka, H., Nakasato, S.: *J. Biochem.*, 99, 1111 (1986).
- 53) Inokuchi, Y., Takahashi, R., Hirose, T., Inayama, S., Jacobson, A. B., Hirashima, A.: *J. Biochem.*, 99, 1169 (1986).
- 54) Furusato, T., Takano, J., Jigami, Y., Tanaka, H., Yamane, K.: *J. Biochem.*, 99, 1181 (1986).
- 55) Yamamoto, Y., Ogawa, T., Shinagawa, H., Nakayama, T., Matsuno, H., Ogawa, H.: *J. Biochem.*, 99, 1579 (1986).
- 56) Shirasu, Y., Yoshida, H., Mikayama, T., Matsuki, S., Tanaka, J., Ikenaga, H.: *J. Biochem.*, 99, 1707 (1986).
- 57) Wakasugi, S., Maeda, S., Shimada, K.: *J. Biochem.*, 100, 49 (1986).
- 58) Miyata, T., Matsumoto, H., Hattori, M., Sakaki, Y., Iwanaga, S.: *J. Biochem.*, 100, 213 (1986).
- 59) Imai, T., Cho, T., Takamatsu, H., Hori, H., Saitoh, M., Masuda, T., Hirose, S., Murakami, K.: *J. Biochem.*, 100, 425 (1986).
- 60) Kawakami, K., Ohta, T., Nojima, H., Nagano, K.: *J. Biochem.*, 100, 389 (1986).
- 61) Hata, A., Tsuzuki, T., Shimada, K., Takiguchi, M., Mori, M., Matsuda, I.: *J. Biochem.*, 100, 717 (1986).
- 62) Kobayashi, Y., Miyamoto, D., Asada, M., Obinata, M., Osawa, T.: *J. Biochem.*, 100, 727 (1986).
- 63) Katagiri, M., Murakami, H., Yabusaki, Y., Sugiyama, T., Okamoto, M., Yamano, T., Ohkawa, H.: *J. Biochem.*, 100, 945 (1986).
- 64) Ikuma, S., Kiyota, M., Setoyama, C., Shimada, K.: *J. Biochem.*, 100, 1185 (1986).
- 65) Daimon, M., Tsutsumi, K., Ishikawa, K.: *J. Biochem.*, 100, 1279 (1986).
- 66) Sumi, Y., Nakamura, Y., Aoki, N., Sakai, M., Muramatsu, M.: *J. Biochem.*, 100, 1399 (1986).
- 67) 村田 晃, 横尾金浩, 大嶋一夫, 加藤富民雄: 農化, 60, 9 (1986).
- 68) 木本光明, 西宗高弘, 伊藤真一, 阿部光子, 林良二: ビタミン, 60, 99 (1986).
- 69) 斉田 要, 木村和夫, 三上栄一, 中村吉宏: 微工研報告, 66, 1 (1986).

(東大農化 矢野圭司)