

プラスミドの複製機構, コピー数と不和合性の関連について

151

(工技院・微工研) ○星野貴行, 池田隆幸, 富塚 登, 古川謙介

1. 目的. 我々は, 耐熱性生体機能の多面的応用を目的として, *Bacillus stearothermophilus* における宿主・ベクター系の開発研究を行, ている。その過程で, 我々が分離した耐熱性細菌由来の 7C^+ プラスミド pTHT15 (4.5kb) が, pUB110 (K_m^r , 4.5kb) と相同な複製開始点領域を有している事が明らかとなった。そこで, これら2プラスミドを, *Bacillus subtilis* 及び *B. stearothermophilus* 両宿主内に共存させた場合に起こる現象について検討する事とした。
2. 方法. pTHT15, pUB110 の heteroplasmid 保有株, 及び pTHT15 とやはり我々が単離した耐熱菌由来の K_m^r プラスミド pTHN1 (4.8kb, K_m^r 遺伝子は pUB110 と相同なもの) を有している) の heteroplasmid 保有株と, *B. subtilis* RM125 株, *B. stearothermophilus* CU21 株を宿主として, プロトプラスチド形質転換法によ, て得た。次いで, これらの株における各プラスミドの安定性を, 非選択圧下, 選択圧下 (抗生物質添加) で検討した。
3. 結果. 複製開始点領域が相同でない pTHT15 と pTHN1 の heteroplasmid 保有株では, 宿主が *B. subtilis*, *B. stearothermophilus* のいずれであるかにかかわらず, 両プラスミドが安定に共存している事が確認された。これに対して, pTHT15 と pUB110 の heteroplasmid 保有株については, *B. subtilis* を宿主とした場合に非選択圧下及び K_m 添加の条件下で, pTHT15 が選択的に失われた株が約10%程度の頻度で生じた。ところが, *B. stearothermophilus* の heteroplasmid 保有株では, 両プラスミドが見かけ上安定に共存している結果が得られた。そこで, heteroplasmid 保有株中でのそれぞれのプラスミドのコピー数を測定したところ, pTHT15 と pUB110 の組合せでは, いずれの宿主においてもコピー数の相互干渉が認められた。

Incompatibility, replication system and copy numbers of plasmids in Bacilli.

○ Takayuki Hoshino, Takayuki Ikeda, Noboru Tomizuka and Kensuke Furukawa
Fermentation Research Institute, Tsukuba, Ibaraki, 305.

海洋性藍藻のプラスミドの検索とその性質

152

(東京農工大・工・資源応化) *鈴木俊彦・松永 是

(三菱化成生科研) 田中暉夫, (日本女大・家政) 山本まみ・大隅正子

- 1) 目的. 筆者らは, 海洋性藍藻による脂質¹⁾, アミノ酸²⁾などの有用物質生産に関する一連の研究を行, ている。ここでは, この海洋性藍藻の効率的な育種を目的として, プラスミドを保有する藍藻を海から分離し, その性質を調べた。
- 2) 方法. 日本各地の沿岸より分離した47株の海洋性藍藻は, 窒素源を含む人工海水培地 50ml のは, いた。100ml の三角フラスコで, 4~5日間通気培養した。プラスミドの検出は, F. Chauvat の方法を用いた。プラスミドの精製は, CsCl-EtBr 平衡密度勾配遠心法および低融点アガロースゲル電気泳動法で行, った。
- 3) 結果. 海洋性藍藻47株より調製した cleared lysate をアガロース電気泳動により調べた結果, *Synechococcus* sp. NKBG 040607, NKBG 041902, *Chlorogseopsis* sp. NKBG 041302 において, プラスミドの存在を確認した。*Chlorogseopsis* sp. プラスミドの存在については, 本報告が初めてで, 分子量が, それぞれ 19.5 kb (pBG 1) および 15 kb (pBG 2) のプラスミドであった。この小プラスミド pBG 2 は, Eco RI, Bam HI でそれぞれ, 1ヶ所ずつの切断点を持つ, ており, クローニングベクターとして有用であることが示された。また, 生細胞の分光光度計のスペクトルにより, C-フィコシアニン, ビーグ, あるものと, プラスミドを持つ藍藻との間に相関関係があることがわかった。藻体をリゾチーム処理をするとプラスミドを持つ藍藻においては上清にフィコシアニンが得られた。

1) 松永, 赤坂, 津崎; 昭和58年度日本醗酵工学会大会講演要旨集 p.275

2) 松永, 中村, 津崎; 日本化学会春季年会講演予稿集 (1984) p.1023

Screening of Plasmids from Marine Blue-Green Algae and their Characterization

*T. Suzuki, T. Matsunaga, T. Tanaka, M. Yamamoto and M. Ohsumi (Department of Applied Chemistry for Resources, Tokyo University of Agriculture & Technology, Koganei Tokyo)