

30 遺伝子工学

132

コリネ型細菌由来組み込み装置遺伝子の解析-*secA*相同遺伝子クローニング
(三菱油化・筑波総合研究所) ○畚野信剛、浅井陽子、小林幹、湯川英明

目的：我々は生体膜中の酵素蛋白質を触媒として有効利用することを目標として、工業的に重要なコリネ型細菌において、生体膜中の酵素蛋白質含量の人為的制御法の開発に取り組んでいる。*Escherichia coli* 膜蛋白質の組み込み・透過に関与する主要な遺伝子としては、*secY*、*E*、*A*が知られている。我々は既にコリネ型細菌より*secY*相同遺伝子をクローニングした¹⁻³⁾。今回、残りの主要遺伝子である*secE*及び*secA*相同遺伝子をクローニングしたので報告する。

方法及び結果：*Escherichia coli*、*Bacillus subtilis*由来の*secA*遺伝子間で保存されている、アミノ末端領域をプローブとして用い、コリネ型細菌である*B. flavum* MJ233染色体より調製したファージバンクをスクリーニングした。プラークハイブリの結果、ポジティブなシグナルを与えるプラークよりDNAを抽出し、さらにサブクローニングを行った。塩基配列決定の結果、他の微生物由来の*secA*遺伝子と高い相同性を示し、コリネ型細菌由来*secA*相同遺伝子をクローニングしたことを確認した。

尚、本研究は通産省次世代産業基盤技術研究開発制度の一環として、新エネルギー・産業技術総合開発機構より委託を受けて実施したものである。

- 1) 生物工学会平成5年度大会要旨集p.17 (1992)
- 2) 第15回分子生物学会年会要旨集p.292 (1992)
- 3) GENE (1993) in press

Cloning and sequencing of the *secA* homolog from Coryneform bacteria
○Nobutake Fugono, Yoko Asai, Miki Kobayashi, Hideaki Yukawa
Tsukuba Research Center, Mitsubishi Petrochemical Co., Ltd.

133

コリネ型細菌由来組み込み装置遺伝子の解析-*secE*相同遺伝子クローニング
(三菱油化・筑波総合研究所) ○浅井陽子、小林幹、湯川英明

目的：我々は生体膜中の酵素蛋白質を触媒として有効利用することを目標として、工業的に重要なコリネ型細菌において、生体膜中の酵素蛋白質含量の人為的制御法の開発に取り組んでいる。*Escherichia coli* 膜蛋白質の組み込み・透過に関与する主要な遺伝子としては、*secY*、*E*、*A*が知られている。我々は既にコリネ型細菌より*secY*相同遺伝子をクローニングした¹⁻³⁾。今回、残りの主要遺伝子である*secE*及び*secA*相同遺伝子をクローニングしたので報告する。

方法及び結果：コリネ型細菌の染色体DNAを含むプラスミドバンクを用いて、*Escherichia coli* K-12*secE*遺伝子低温感受性変異株⁴⁾を宿主とした相補実験を行い、低温(20℃)での生育を回復した形質転換体を2株得た。これらの形質転換体よりプラスミドDNAを抽出し、約0.5kbのコリネ型細菌染色体DNA由来挿入断片を得た。塩基配列決定の結果、他の微生物由来の*secE*遺伝子との相同性が認められ、コリネ型細菌由来*secE*相同遺伝子をクローニングしたことを確認した。塩基配列から推定されるアミノ酸配列において、少なくとも1つの膜貫通ドメインが存在することが示唆された。

本研究は通産省次世代産業基盤技術研究開発制度の一環として、新エネルギー・産業技術総合開発機構より委託を受けて実施したものである。

- 1) 生物工学会平成5年度大会要旨集p.17 (1992)
- 2) 第15回分子生物学会年会要旨集p.292 (1992)
- 3) GENE, 1993, in press
- 4) EMBOJ, 10, p1749, 1991

Cloning and sequencing of the *secE* homolog from Coryneform bacteria
○Yoko Asai, Miki Kobayashi and Hideaki Yukawa
Tsukuba Research Center, Mitsubishi Petrochemical Co., Ltd.