

571 ナイロンオリゴマー分解酵素EⅠ遺伝子ホモログのクローニング
(熊本工大・応微工) 田口久貴、○大和一治、赤松 隆、岡田弘輔

【目的】 前々大会において、ナイロン工場廃液中より、新にナイロンオリゴマー分解性菌を3株単離したことを報告した。本報では、これらの菌株の持つナイロンオリゴマー分解酵素遺伝子と既知遺伝子との相同性を調べ、1菌株よりEⅠ酵素遺伝子のホモログをクローニングしたので、その結果を報告する。

【方法及び結果】 Bergey's manual により3株とも *Flavobacterium* 属に属すると同定した。染色体 DNA の相同性試験より、3菌株は2種類の菌株であると判断し、D5-1とD5-2と命名した。D5-1は環状の1-5量体を分解し、D5-2は2量体以外の環状1-5量体を分解する。D5-2からは、プラスミドを確認したが、D5-1からは検出できなかった。既知分解酵素遺伝子との相同性を、DNA-DNA 雑種形成法で調べた。D5-2プラスミド上に、弱いながらもEⅠ、EⅡ、EⅢ遺伝子のホモログ(40℃)を確認した。D5-1については総DNAを抽出し調べたところ、EⅠ遺伝子のホモログ(68℃)を確認したが、EⅡ、EⅢ遺伝子のホモログ(50℃まで)は確認できなかった。pUC19 に、D5-1株染色体 DNA の6-9 KbのEcoRI 断片を含むバンクを約500個構築し、この中よりEⅠ遺伝子ホモログを含む1クローンを得た。本プラスミドは、6.6 Kbの挿入断片を含んでいた。D5-1株からは、プラスミドの存在が認められないことより、このホモログは染色体 DNA 上に存在する可能性がある。 Cloning of a homologue of EⅠ gene encoding 6-aminohexanoic-acid-cyclic-dimer hydrolase of *Flavobacterium* sp. K172 from *Flavobacterium* sp. D5-1. Hisataka Taguchi, Kazuharu Yamato, Takashi Akamatsu and Hirotsuke Okada *nylA* homologue, *Flavobacterium* sp. D5-1, nylonoligomer

572 DNA配列から推定される *Pseudomonas fluorescens* 由来のプロリンパーミアーゼについて
(工技院・生命研) ○細矢博行、中村和憲

【目的】 シュードモナス属細菌など土壌微生物の遺伝子構造を明らかにし、大腸菌など他の微生物の遺伝子構造と比較検討することを目的とし、対象の遺伝子として、プロモータープロンプトランスポゾンTn5-21を用いて得られたにアミノ酸取り込みに関与する膜タンパク質プロリンパーミアーゼを用いて検討した。

【方法及び結果】 1. *P. fluorescens* の染色体DNAのXhoI断片をPHSG397にクローニングし、Tn5-21を用いて得られた *P. fluorescens* のプロモーターを含むDNA断片(3 PF8)の一部(235bp)をプローブとして選択した。2. 得られたDNAの塩基配列(2222 bp)を決定したところ、494アミノ酸からなるORFが存在した。3. データベースを用いてホモロジー検索を行ったところ、大腸菌のプロリンパーミアーゼとホモロジーがあり、大腸菌のとはDNAレベルで71%、アミノ酸レベルで76%の相同性があった。4. アミノ酸配列から予想されるタンパク質の構造も大腸菌のプロリンパーミアーゼと非常に類似していた。5. 大腸菌のプロリンパーミアーゼはプロリンにより誘導され、カタボライトレプレッションを受けるが、*P. fluorescens* 由来のプロリンパーミアーゼは、挿入されたTn5-21から判断すると、プロリンによる誘導もカタボライトレプレッションも受けていなかった。6. クローニングされたDNAをプローブとして、サザンハイブリダイゼーションにより他のシュードモナス属細菌などのDNAと比較をした。

Proline permease from *Pseudomonas fluorescens* deduced from DNA sequence

○ Hiroyuki Hosoya, Kazunori Nakamura (Nat'l. Inst. Biosci. Human-Technol.)

【Key Words】 proline permease, *P. fluorescens*