

- 575 *Bacillus subtilis* YB8 の抗菌物質生産に関与する遺伝子の  
クローニング  
(東工大・資源研) ○柘植 謙爾、阿野 貴司、正田 誠

【目的】 *Bacillus subtilis* YB8 は、各種の植物病原菌に対して、抗菌活性を有し、この作用はこの菌が生産する抗菌物質による。本菌を微生物農薬として利用するための基礎研究として、抗菌物質の生産に関与する遺伝子のクローニングを試みた。

【方法および結果】 枯草菌 Marburg 168 派生株を宿主に用い、サーファクチン生産能の回復を指標にして、YB8染色体からのショットガンクローニングを行った。サーファクチン生産能を回復させたDNA断片を元に、YB8染色体上でのこの遺伝子の破壊株を作製したところ、破壊株ではサーファクチン生産能が失われると同時に、植物病原菌である *Fusarium oxysporum* に対する抗菌活性も失われた。この遺伝子破壊株に正常な遺伝子を導入したところ、サーファクチン生産と共に、抗菌活性が回復した。このDNA断片の塩基配列を決定したところ、1つの読み枠が認められた。この遺伝子を *lpa-8* と命名した。*lpa-8* はサーファクチン生産に関与する遺伝子としてクローニングされている *sfp* と非常に高い相同性を示した。現在、YB8の生産する抗菌物質の精製と構造決定を行っている。  
Cloning of a gene responsible for an antibiotic production from *Bacillus subtilis* YB8.

○Kenji Tsuge, Takashi Ano, Makoto Shoda

(Res. Lab. of Resources Utilization, Tokyo Institute of Technology)

【Key Words】 *Bacillus subtilis*, antibiotic, surfactin, *lpa-8*, *sfp*

- 576 The development of a transformation system of the *Streptomyces griseus* 2247 for gene cloning

○H. ZHANG, H. SHINKAWA, H. KINASHI and O. NIMI  
(Dept. Ferment. technol., Hiroshima Univ)

*Streptomyces griseus* 2247 is a streptomycin-producing, yellow pigment forming and sporulating strain. Its pleiotropic mutant HT-3 which is deficient these abilities was obtained after the heat-shock treatment of *S. griseus* 2247. The shotgun cloning method can not be applied to investigate the gene complementing HT-3 defect because the regeneration frequency of *S. griseus* 2247 is very low on the R2YE (Hopwood et al) medium which is commonly used in transformation of *Streptomyces*. So it is necessary to establish a efficient transformation system for *S. griseus* 2247.

Firstly, to optimize the growth time for protoplast preparation, the protoplasts were prepared at different phase of growth, then regenerated. The optimum culture time was 24-28 hrs after inoculation. On the basis of R1 (Okanishi et al) and R2YE media, the effects of some important components, such as polypeptone, yeast extract,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  and some amino acids, on the regeneration frequency, were investigated. On resulting medium, designated as R1M, the regeneration frequency was increased more than 100-folds compared with R1 or R2YE was obtained. The satisfied transformaton frequency was also obtained on this medium.

Keyword: *Streptomyces griseus*, pleiotropic mutation