

603 *S. marcescens*のリパーゼ分泌欠損株を用いた分泌機構の解析
 ○赤塚浩之、櫻井直樹、大森謙司、柴谷武爾*
 (田辺製薬・医薬開発研究所*、医薬拓新研究所)

【目的】 *S. marcescens*のリパーゼはグラム陰性菌で広く知られているN末端シグナル配列非依存的な分泌機構であるヘモリシン様の分泌機構によって菌体外に分泌されている。今回は、*S. marcescens*におけるこの分泌機構の解析をリパーゼ分泌欠損株を用いて行った。

【方法および結果】

1)NTG処理によって単離した*S. marcescens* Sr41のリパーゼ分泌欠損株19株中11株は、菌体外リパーゼと同時に金属プロテアーゼの分泌も欠損していた。2)このうち10株は*S. marcescens*のヘモリシン様分泌機構をコードする遺伝子(*lipBCD*)の導入により両蛋白の分泌が同時に回復した。3)外膜蛋白をコードする*lipD*欠損株においてLipB/C/Dとは別のヘモリシン様分泌機構であるHasD/Eの発現を誘導した場合、金属プロテアーゼの分泌が認められた。4)*S. marcescens*はLipD以外にもHasD/Eとカップルする外膜蛋白を持っていることが示唆された。

Analysis of the mutants lacking for the extracellular lipase of *S. marcescens*.

○Hiroyuki Akatsuka, Naoki Sakurai, Kenji Omori and Takeji Shibatani*

(Pharmaceut. Devel. Res. Lab.* and Lead Gener. Res. Lab., Tanabe Seiyaku Co., Ltd.)

【Key Words】 *S. marcescens*, lipase, secretion, mutant

604 乳酸菌 *Enterococcus faecalis* における宿主-ベクター系の開発
 (早大・理工、*ニッポンジーン) ○海老原理、桐村光太郎、
 金山晋治*、宇佐美昭次

【目的】 乳酸菌は古くからチーズ、発酵乳などの乳製品や漬物、清酒、ワインなどの食品製造に広く利用されてきた。しかし、乳糖資化、タンパク質分解といった製造上必要な形質が失われるために起こる発酵遅延や、ファージ感染による異常発酵が問題となっている。これらの形質の遺伝的側面の研究や、さらには分子育種を目的として、*Enterococcus faecalis* を中心とした乳酸菌における新規な宿主-ベクター系の開発を行った。

【方法及び結果】 乳酸菌 *E. faecalis* 由来のプラスミド pAM α 1 を利用し、乳酸菌及び大腸菌で機能する種々のシャトルベクターを構築した。その中で、シャトルベクター pEFX6 は、全長 5.8 kbp であり、乳酸菌、大腸菌の両者で発現するテトラサイクリン遺伝子マーカーを有している。また、*E. faecalis* ATCC 14508 株をキュアリング処理して得られた、pAM α 1 脱落株である C57 に加えて、*E. faecalis* subsp. *liquefaciens* IFO 12968 および *E. faecalis* subsp. *zymogenes* IFO 3989 において、pEFX6 は複製可能であり、エレクトロポレーションによる形質転換効率は $10^3 \sim 10^5$ に達した。また、このベクターの乳酸菌における自己複製領域の塩基配列を決定した。この領域は、3095 bp から成り、Repタンパクと推定される 720 bp の ORF を含み、さらに plus origin および minus origin と推定される配列を含んでいた。現在、このベクターをもとにして、分泌ベクターの構築を進めている。

Development of host-vector system for *Enterococcus faecalis*.

○Tadashi Ebihara, Kohtaro Kirimura, Shinji Kanayama*, and Shouji

Usami, (School Sci. & Engineer., Waseda Univ.; *Nippon Gene Co. Ltd.)

【Key Words】 *Enterococcus faecalis*, pAM α 1, Rep protein, shuttle vector