

511 T4ファージ溶菌タンパク質による大腸菌の溶菌特性

(東工大・生命理工) ○浅見和広, 中谷智子, ケイ新会, 丹治保典, 海野肇

【目的】 大腸菌によって生産されるバイオ生産物の多くは、菌体内に蓄積されるため、菌体を集菌し、細胞破碎後に分離回収しなければならない。本研究では、菌体内生産物を効率的に分離回収するために、バクテリオファージT4の溶菌作用を利用して、自己溶菌する大腸菌の開発を目指した。

【実験方法及び結果】 T4ファージによる溶菌には、感染時にファージDNAを注入するため必要とされるgp5、ファージ感染後期、複製したファージ粒子を菌体外に放出するときに必要とされる、gpTとgpEが関与している。上記3種のタンパク質に大腸菌の外膜タンパク質であるpelBのシグナルペプチドを付加して、大腸菌内で誘導発現させた。従って、発現される溶菌タンパク質はペリプラズムへ分泌されと考えられる。用いたベクターはpET 26b(+), 大腸菌はBL21(DE3)pLysSである。大腸菌の溶菌に伴う菌体内タンパク質の放出特性は、培地中の β -galactosidase活性を測定することにより解析した。その結果、gp5の内、gpEと相同性が高く、リゾチーム活性があると考えられるポリペプチド(169アミノ酸残基)を発現した場合、大腸菌は溶菌しなかった。gpTを対数増殖期後期、ならびに静止期に発現した場合、いずれも速やかに溶菌し、 β -galactosidase活性が培地中に検出された。gpEを静止期に発現した場合、速やかな溶菌は見られなかったが、桿菌である大腸菌が球状に変化していた。ペリプラズムへ分泌されたgpEがペプチドグリカンに作用して、菌体の構造を変化させたものと考えられる。

Disruption of *Escherichia coli* cells by lysis protein of bacteriophage T4

○Asami, K., Nakatani, T., Xing, X.-H., Tanji, Y. and Unno, H.

(Dept. Bioeng., Tokyo Institute of Tech.)

【Keywords】 *Escherichia coli*, cell lysis, bacteriophage T4

512 有機溶媒耐性菌に関する研究

(名城大、農、応微) ○ト素、武野彰、吉村大蔵、山下勝

【目的】 アルコールによる微生物殺菌機構の解明を目的として、アルコール類に対して特異的な耐性を示す有機溶媒殺菌耐性菌を集め、それらの菌の有機溶媒殺菌耐性及び有機溶媒殺菌耐性因子の検討を行う。

【方法及び結果】 土壌等から有機溶媒殺菌耐性菌の分離を行うと共に、研究室保存株の変異を行い、有機溶媒殺菌耐性菌を得た。土壌からは主として *Bacillus* sp. および *Pseudomonas* sp. が得られた。研究室保存株では、*Staphylococcus aureus* に紫外線照射を行い、保存株よりアルコール耐性の高い菌を取得した。得られた菌株のうち主として研究対称菌として、*Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp. を用い試験した。有機溶媒殺菌耐性菌は疎水的なアルコール類、有機溶媒には強い耐性を示したが、親水的なメタノール、エタノール等に対しては耐性が比較的弱かった。アルコール類に強い耐性を示した *Staphylococcus* sp. は過酸化水素耐性変異菌から得られた。これらの菌のプロトプラスミトを作製したところ、アルコール殺菌に対して非常に弱くなったので、細胞壁がアルコール殺菌に大きく関与していると推定された。そこで細胞壁の蛋白質、脂質等について耐性との関係を調査した。

Organic solvent tolerant bacteria

○Su Bu, Akira Takeno, Daizou Yosimura, Masaru Yamasita

(Dept. Agriculture Meijo Univ.)

【Key words】 *Bacillus*, *Staphylococcus*, organic solvent tolerance