

1Fp11 *Leuconostoc pseudomesenteroides QU 15* が生産する新奇バクテリオシン

○澤 稔彦^{1,2}, 岡村 かすみ¹, 善藤 威史¹, 中山 二郎¹, 園元 謙二^{1,3}
(¹九大院・農, ²九大・VBL, ³九大・バイオアーク)

【緒言】乳酸菌は、様々な発酵食品に関与しており、また同時にバクテリオシンを生産している例も少なくない。本研究では、ぬか床より分離された*Leuconostoc pseudomesenteroides QU 15* が生産する新奇バクテリオシンの精製および構造解析を行った。

【方法・結果】本菌株のMRS培養液上清から、種々のクロマトグラフィーによって、4種のバクテリオシン（ペプチドA～D）を精製した。これらの精製バクテリオシンは、*Listeria innocua* をはじめとするグラム陽性菌に対して顕著な抗菌活性を有していた。次に、これらの分子量、アミノ酸配列および構造遺伝子の解析を行った。その結果、ペプチドB（3929.6 Da）は、leucocin Aと同定された。またペプチドA（3196.8 Da）は、leucocin AのC末端7残基欠損体であった。ペプチドC（3657.8 Da）およびD（3680.8 Da）は、それぞれ31残基、32残基で構成される新奇バクテリオシンであり、leucocin Qおよびleucocin Nと命名した。Leucocin QとNは、隣接するorfにコードされ、二成分バクテリオシンの特徴を有していたが、相乗効果作用は示さなかった。

Novel bacteriocins produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* QU 15

○Naruhiko SAWA^{1,2}, Kasumi OKAMURA¹, Takeshi ZENDO¹, Jiro NAKAYAMA¹, Kenji SONOMOTO^{1,3}
(¹Fac. Agric., Kyushu Univ., ²Venture Business Laboratory, Kyushu Univ., ³Bio-Arch., Kyushu Univ.)

Key words lactic acid bacteria, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, multiple bacteriocins, bacteriocin

1Fp13 新奇乳酸菌バクテリオシン、ラクティシンQ生合成機構の解明

○岩谷 駿¹, 堀切 佑子¹, 宮下 紫穂¹, 米山 史紀¹, 善藤 威史¹, 中山 二郎¹, 園元 謙二^{1,2}
(¹九大院・農, ²九大・バイオアーク)

【目的】乳酸菌が生産するバクテリオシンは、天然由来の安全な食品保存料としての利用が期待されている。当研究室により分離された乳酸菌、*Lactococcus lactis* QU 5が生産するラクティシンQは、リーダー配列を有さず翻訳後直ちに活性型となることから、通常の乳酸菌バクテリオシンとは異なる生合成機構を持つことが予想される。本研究では、ラクティシンQの生合成機構の解明を目指し、バクテリオシン非生産株を宿主とした各種遺伝子群の異種発現系の構築を試みた。

【方法・結果】ナイン誘導型プロモーターの下流にラクティシンQ構造遺伝子(*lnqQ*)のみをクローニングし、NisR/Kを保持する*L. lactis* NZ9000株を宿主として発現誘導を行ったところ、ラクティシンQの菌体外への正常な輸送が行われず、宿主への生育阻害が確認された。一方、DNAシーケンス解析により、*lnqQ*の近傍に11個の推定orfが見出され、*in silico*による解析から*lnqQ*下流の5つのorfがラクティシンQの生合成に関与していることが予想された。現在、これらのorfと*lnqQ*との共発現株を構築し、各遺伝子群の機能解析を行っている。

Biosynthesis mechanism of a novel bacteriocin, lacticin Q

○Shun IWATANI¹, Yuko HORIKIRI¹, Shiho MIYASHITA¹, Fuminori YONEYAMA¹, Takeshi ZENDO¹, Jiro NAKAYAMA¹, Kenji SONOMOTO^{1,2}
(¹Fac. Agric., Kyushu Univ., ²Bio-Arch., Kyushu Univ.)

Key words bacteriocin, *Lactococcus lactis*, biosynthesis, lacticin Q

1Fp12 *Enterococcus faecium* NKR-5-3が生産する複数のバクテリオシンの生合成遺伝子の解析

○石橋 直樹¹, 姫野 康平¹, 益田 時光¹, 富士田 浩二¹, 善藤 威史¹, WILAIPUN Pongtep², 中山 二郎¹, 園元 謙二^{1,3}
(¹九大院・農, ²カセサート大, ³九大バイオアーク)

【目的】タイの発酵魚から分離された*Enterococcus faecium* NKR-5-3は5種類のバクテリオシン（ペプチドA, B, C, D, Z）を生産する。本研究では、NKR-5-3におけるバクテリオシン生合成遺伝子の解析を目的とした。

【実験方法及び結果】各バクテリオシンの生合成遺伝子群を明らかにするためにフォスマジドベクターを使ったNKR-5-3のゲノムライブラリーを用い、構造遺伝子近傍の塩基配列の特定を試みた。コロニーPCRにより構造遺伝子を含むコロニーのスクリーニングを行ったところ、ペプチドC, Dの両構造遺伝子を保有するコロニーを得ることができた。その詳細なシーケンス解析の結果より、4つのバクテリオシン（A, C, D, Z）の構造遺伝子が約13 kbpという近い領域内にコードされていることが明らかとなった。また、ペプチドC, Dの両遺伝子近傍の領域は、*Lactobacillus sakei* 5が生産するバクテリオシン、sakacin T, Xの生合成遺伝子群と相同性が高く、トランスポーターや自己耐性を示すタンパク質など、多くの推定タンパク質が発見された。

Analysis of biosynthetic gene cluster of multiple bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* NKR-5-3

○Naoki ISHIBASHI¹, Kohei HIMENO¹, Yoshimitsu MASUDA¹, Koji FUJITA¹, Takeshi ZENDO¹, Pongtep WILAIPUN², Jiro NAKAYAMA¹, Kenji SONOMOTO^{1,3}
(¹Fac. Agric., Kyushu Univ., ²Kasetsart Univ., ³Bio-Arch, Kyushu Univ.)

Key words bacteriocin, multiple bacteriocins, *Enterococcus faecium*, sakacin

1Fp14 ヒアルロン酸を産生する*Streptococcus thermophilus* の探索

○伊澤 直樹, 花水 智子, 曽根 俊郎, 水越 晴美, 木村 一雅, 千葉 勝由
(ヤクルト中央研究所)

【目的】ヒアルロン酸（Hyaluronic acid、以下HA）は創傷治癒能や水分保持能を有し、医薬品、化粧品、食品分野において広く用いられている。HAは主に鶏冠からの抽出や、*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*による発酵法によって製造されているが、種を超えた感染性物質等の混入が懸念されている。一方、ヨーグルト製造菌である*Streptococcus thermophilus* は株毎に多様な種類の多糖を生産することが知られている。食経験が豊富で安全である本菌がHAを生産するとすれば、その実用性は高いと考えられる。そこで我々はHAを生産する*S. thermophilus* の探索を行った。

【方法及び結果】*S. thermophilus* 46株を10%スキムミルク中で静置培養し、上清中のHA濃度を、HAを特異的に認識するHA binding proteinを用いて測定した。6株の培養上清にHAを含む多糖が生産されていることが示唆され、そのうち一株(YIT 2084)の培養上清に特に高いHA濃度(8 mg/l)が認められた。YIT 2084株の培養上清を精製して得られた多糖の高分子画分のNMRスペクトルは市販の*S. equi* subsp. *zooepidemicus* 由來のHAとよく一致しており、*S. thermophilus* YIT 2084は培養上清中にHAを生産することが確認された。

Screening of *Streptococcus thermophilus* for production of hyaluronic acid.

○Naoki Izawa, Tomoko Hanamizu, Toshiro Sone, Harumi Mizukoshi, Kazumasa Kimura, Katsuyoshi Chiba
(Yakult Cent. Inst.)

Key words *Streptococcus thermophilus*, hyaluronic acid, NMR