

## 29【P1】Ⅲ-211

*Bacillus brevis* の Edeine B<sub>1</sub> amidinohydrolase 遺伝子の上流領域の解析

○下遠野 久美子<sup>1</sup>, 黒森 万里恵<sup>1</sup>, 青木 千明<sup>1</sup>, 片桐 吉隆<sup>1</sup>, 鮫島 弘子<sup>1</sup>, 遠藤 豊成<sup>1</sup>(<sup>1</sup>共立薬大)

【目的】我々はペプチド系抗生物質、edeine の生産株 *Bacillus brevis* TT02-8 株より edeine B<sub>1</sub> の末端を構成しているグアニルスペルミジンの amidine 基の離脱に関与する酵素 (edeine B<sub>1</sub> amidinohydrolase) を精製し、更にその遺伝子をクローニングしてきた。今回はこの遺伝子上流領域を解析したので報告する。

【方法】*Bacillus brevis* TT02-8 の染色体 DNA を *Sau3A1* で部分水解し、アルカリホスファターゼ処理した DNA 断片を  $\lambda$ ファージ DNA の *Bam*H1 サイトに組み込み Gigapack III gold でファージを構築した。大腸菌に感染させ、ライブラリーを作成し、既に明らかな塩基配列から作成したプローブを使って、ウォーキング法で edeine B<sub>1</sub> amidinohydrolase 遺伝子上流 並びに下流の DNA を有する陽性ファージを数個 得た。陽性ファージより DNA を精製し、すでに明らかな塩基配列から PCR プライマーを合成し、順次、ABIDNA シークエンサーで解析した。

【結果および考察】ウォーキング法で拾った陽性コロニーから 1 2 種類の DNA を調製し、ファージ DNA に組み込まれているサイズを確認した。Edeine B<sub>1</sub> amidinohydrolase 遺伝子上流の DNA について 17kb を明らかにし、遺伝子の可能性について解析したところ、すでに報告のある *B. subtilis* の遺伝子と高い相同性のある遺伝子が数個、みつかった。さらに、遺伝子の可能性のある未知の ORF も見出し、他の属の遺伝子との比較検討を行っている。