

미생물의 성 pheromone

(Sexual Pheromone of Microorganism)

정 영 기

동 의 대 학 교 자 연 과 학 대 학 미 생 물 학 과

I. 서 론

고도로 분화한 다세포생물에서, 세포간의 정보전달은 서로 다른 정보물질, 예를 들어 hormone과 같은 물질에 의하여 행해진다. 이와같은 물질은 생물의 발생, 개체유지 및 생식뿐만 아니라 면역기구의 조절, 생체외의 자극에 대응하는 신경반응에도 중요한 역할을 하고 있다. 화학적 정보전달은 동종생물개체간에 있어서도 행해지고 있다.¹⁾

이와같은 정보물질을 pheromone이라고 부르는데, 이를 정의하면 생물의 체내에서 합성되고 체외로 분비되어 동종개체에 작용함으로써 특성의 생리적변화를 유발하는 물질이다. Pheromone중에서도 잘 알려져 있는 예로서는 곤충이라든지 어떤 종류의 척추동물에서 분비되는 성유인 물질을 들 수 있다. 단세포생물의 정보전달이 pheromone으로써 행해진다는 예가 몇가지 있다. 생물중에서는 성장의 어느 단계에서 pheromone과 같은 물질이 관여하고 있다는 것이 알려져 있다.²⁻⁷⁾

예를 들어 Myxobacteria나 Cyanobacteria의 아포가 형성될 때 배양액으로부터 아포형성을 촉진시키는 물질이 분리된다는 것이다. 또한, 단세포생물에서 세포외로 분비하여 2개의 세포를 서로 접합시키는 물질이 있는데 이러한 물질을 성 pheromone이라 부르고 있다. 특히, 효모, 버섯, 조류, 섬모충류에서 연구되고 있다.⁸⁻¹¹⁾ 효모의 pheromone과 그에 따른 접합기구에 관한 보고도 많이 있다.¹²⁻¹⁷⁾ 효모는 성접합형을 달리하는 두 균주가 상호 pheromone을 분비, 수용하여 성분화를 행하여가고 있다. 그리고 세균에 있어서도 pheromone 양상의 물질이 세포외로 분비되고 이 물질에 의하여 세균의 생리적조건에 영향을 주는 예가 있다.¹⁸⁻²⁵⁾ 지금까지 알려져 있는 미생물의 성 pheromone에 대하여 크게 나누어 보면 지용성 성 pheromone(Table 1 참조)과 수용성 성 pheromone으로 대별할 수 있다. 본 총

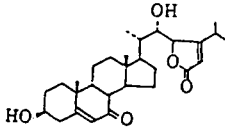
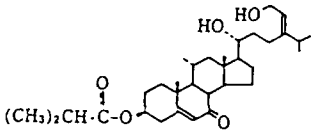
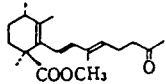
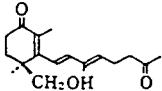
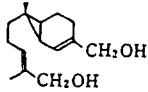
설에서는 세균과 자낭균효모, 담자균효모유래의 성 pheromone 중 peptide(수용성) 성 pheromone에 대해서만 집약하여 정리하고자 한다.

II. 세균의 성 pheromone²⁶⁻²⁷⁾

세균은 진핵생물에서 행해지는 것과 같은 유성생식의 과정은 알려져 있지 않다. 그 대신에 전달성 plasmid가 세균간의 접합에 의한 plasmid보유균(공여균, 雌菌)으로부터 plasmid비보유균(수용균, 雌菌)에게 plasmid가 전달되는 것이 알려져 있다. 이것은 세균의 성접합형현상이라고 보아도 되겠다. 전달성 plasmid는 많은 세균에 존재하는 것으로 알고 있으나, 그 대표적인 것은 F-plasmid이거나 다체내성균이 갖는 R-plasmid이다. Gram 음성세균인 대장균의 F-plasmid에 대한 연구는 많이 진전되고 있으며, F-plasmid를 보유하는 균에는 성섬모(sex pili)가 형성되어 있어 성섬모가 없는 plasmid비보유균을 인식하여 접합을 하게 되는 것이다.²⁸⁾

Gram 음성세균에서는 전달성 plasmid의 존재가 알려져 있지 않다. 미시건대학의 Clewell 등은 gram 양성 연쇄상구균인 *Streptococcus faecalis*에서는 전달성 plasmid 비보유균(plasmid 수용균, 雌菌)이 분비하는 성 pheromone에 의하여 접합이 일어나고 그로부터 plasmid의 전달이 유도되는 것을 증명하였다.²⁹⁾ 즉, 전달성 plasmid를 보유하는 공여균과 비보유균인 수용균을 혼합하면 균의 응집이 생기게 된다. 그리고 수용균의 배양액을 공여균에 넣어주게 되면 똑같은 형태의 응집이 발생한다. 그러나 공여균의 배양액을 수용균에게 넣어 주었을 때는 수용균은 아무런 응집반응을 보이지 않는다. 이러한 현상은 수용균이 배양액중에 성 pheromone을 분비하여 공여균의 응집능을 유도하고 있다고 생각할 수 있다. Clewell은 이 물질에 대하여 CIA(Clumping

Table 1. 미생물의 脂溶性 성Pheromone.

균 명 (분리세포)	화 학 구 조 (물질명)	생 리 작 용 (유효농도)
<i>Achlya</i> (<i>A. bisexualis</i>)	 (Antheridiol)	雄性균에 조정기형성을 유도 (20ng/ml)
(<i>A. heterosexualis</i>)	 (24(28)-Dehydroorgoniol)	雌性균에 조난기형성을 유도 (50ng/ml)
<i>Mucor mucedo</i> (+) 균	 (4-Hydroymethyltrisporate B)	(-)균에 전배우자낭형성을 유도
(-) 균	 (Trisporol B)	(+)균에 전배우자낭형성을 유도
<i>Allomyces</i> (雌 배우자)	 (Sirenin)	雄배우자의 형성을 유도

Inducing Agent)라고 이름짓고, 이 물질은 열에 안정한 peptide 물질임을 보고 하였다.²⁹⁾ 이어서, 일본 동경대학의 Sakagami 등은 Clewell에게서 본균을 제공받아 bacteriocin 생산 plasmid인 pPD1에 대한 성 pheromone(cPD1)의 구조결정을 행했다.³⁰⁾ 즉, 수용균 *S. faecalis* JH 2-2 균주(pPD 1 비보유균주)의 배양액에서 pPD1을 보유하는 균주 *S. faecalis* 39-55a균주의 CIA활성을 지표로하여 정제를 행했다. 또 hemolysin 생산 plasmid인 pAD1을 보유하는 공여균 *S. faecalis* OGIS 균주에 응집능을 유도하는 CIA, cAD1에 대하여 정제를 행하여 그 구조를 Table 2에서 보는 바와 같이 결정하였다.³¹⁾

cPD1, cAD1은 다같이 plasmid 공여균의 응집을 지표로

하여 단리되었기 때문에, plasmid 전달능에 대하여도 Table 3에서 보는 바와 같이 양자는 똑같이 배양상층에 함유하고 있는 plasmid 전달촉진활성과 완전히 동일하였다.³²⁾ 또 양자는 모두 oligopeptide이며 2 잔기의 amino acid가 일치하고 n-말단에 대하여도 서로 비슷한 양상을 보이나 CIA활성과 plasmid전달촉진활성에는 전혀 교차성이 없는 것으로 보아, 이들 성 pheromone은 구조특이성이 높은 것으로 증명된다.

CIA의 생합성작용기구에 대하여는 Clewell에 의하여 연구되어 그 응집현상에 관한 가설이 보고된 바 있다³³⁾(data 생략).

Table 2. cPD1과 cAD1의 화학구조.

성pheromone	화 학 구 조
cPD1	H - Phe - Leu - Val - Met - Phe - Leu - Ser - Gly - OH
cAD1	H - Leu - Phe - Ser - Leu - Val - Leu - Ala - Gly - OH

Table 3. cPD1와 cAD1의 plasmid전달촉진 활성.

수용균×공여균	공여균의 처리조건	공여균에 대한 plasmid 전달빈도
39-5S ₂ ×JH2-2	JH2-2 Culture sup.	1.5×10 ⁻³
	cPD1*	1.0×10 ⁻³
	cAD1*	<1.4×10 ⁻⁷
	control	<1.4×10 ⁻⁷
OG1S×JH2-2	JH2-2 Culture sup.	1.1×10 ⁻³
	cPD1	4.7×10 ⁻⁶
	cAD1	1.3×10 ⁻³
	control	2.4×10 ⁻⁶

*cPD1, cAD1의 농도는 JH2-2 배양상층에 함유된 농도와 동일함.

III. 자낭균효모의 성 pheromone

효모라하면 그 대표적인 균으로 *Saccharomyces cerevisiae*를 들 수 있지만 넓은 의미에서는 효모형세포를 모두 포함한 균류를 말한다. 여기에서는 자낭균효모의 대표로서 *S. cerevisiae*의 성 pheromone에 대하여 논해보기로 한다. *S. cerevisiae*의 생활환은 Fig. 1에서 보이는 바와 같이 1배체의 세포에는 α형과, a형이 있으며 이들 양 異型細胞가 접합하는 것에 의하여 2배체세포로 된다. 접합하게 되면 α, a형세포는 모두가 길고 홀쭉한 모양으로 변하면서 서로서로 응집한 후에 DNA합성이 정지되고 G1기에서 멈추게 된다.

α세포의 배양상층액중에서 a세포와의 응집, a세포의 형태변화와 DNA합성저지를 유도하는 물질의 존재가 증명되었다. 그 후에 각 연구팀에 의하여 배지중에 분비된 성 pheromone(α-factor)의 정제 및 구조결정이 행해졌다.³³⁻³⁵⁾ 그 결과의 구조식과 생리적작용을 Table 4에서 정리하였다.

Table 4에서 보이는 바와 같이 α-factor의 전구조는 12 혹은 13개의 아미노산으로 구성되어 있으며 아미노말단

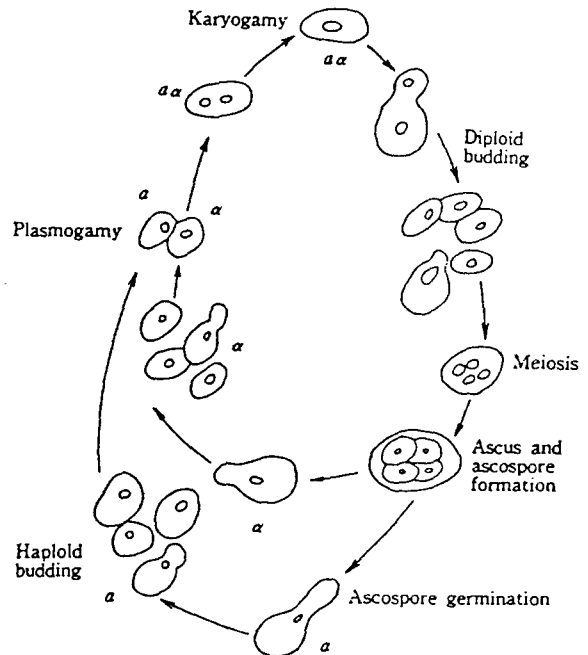


Fig. 1. *Saccharomyces cerevisiae*의 생활환.

tryptophane은 공통으로 존재하고 있으나, 생리활성의 발

Table 4. *Saccharomyces*의 α -factor.

균명(분비세포)	화 학 구 조 물 명	생 리 작 용 (유효농도)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (α 형 세포)	H-Trp-His-Trp-Leu-Gln-Leu-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Met-Tyr-OH α_1 (α -factor*)	a형세포에 세포신장 변형유도 (10ng/ml)
	H-His-Trp-Leu-Gln-Leu-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Met-Tyr-OH α_2 (α -factor)	성적응집능유도 (0.4ng/ml)
<i>Saccharomyces kluyveri</i>	H-Trp-His-Trp-Leu-Ser-Ser-Ser-Lys-Gly-Glu-Pro-Met-Tyr-OH	<i>S. cerevisiae</i> 의 a형 세포에 성적응집력유도 (10ng/ml)

* α_3 는 α_1 의, α_4 는 α_2 의 methianine 이 methionine sulfoxide로 산화된 것임.

현에는 필수적이 아니라는 것이 밝혀졌다.³⁶⁾ *S. cerevisiae*의 접합형 a세포가 생산하고 α -factor에 대립하는 a-factor의 구조는 Betz 등³⁷⁾에 의하여 결정되어 Table 5에서 보이는 바와 같다.

이 아미노산배열을 Brake 등은 합성 DNA probe를 이용하여 DNA cloning을 행하여 2종의 유전자 MFa1, MFa2를 얻었다. MFa1은 [Leu⁶]-a-factor를 1copy-code하고, MFa2는 [Val⁶]-a-factor를 1copy-code하고 있지만 c-말단에 있는 3잔기의 아미노산배열은 Table 5에서 보이는 바와 같이 Betz 등이 제창한 것과는 달랐다. Thorner 등은 Brake 등이 얻은 결과와 담자균효모의 성 pheromone을 참고하여 cystein을 아미노말단으로 하는 아미노산 12잔기로 형성되는 peptide를 합성한 결과 생물활성을 갖는다는 것을 보고하였다.³⁹⁾ 이상의 자낭균효모 *S. cerevisiae*의 성 phero-

mene α -factor와 a-factor는 우선 분자량이 큰 전구체로 합성되어 세포내로 운반되는 과정에서 processing되어 성숙 pheromone의 형태로 세포외로 방출되는 것으로 알려지고 있다. α -factor의 전구체 processing의 모식도를 Fig 2와 같이 예상할 수 있다.

IV. 담자균효모의 성 pheromone

담자균중에서는 그 유성세대가 효모형의 세포를 취하는 종류가 알려져 있는데 이들을 담자균효모라고 부른다. 본고에서는 담자균중에서도 접합형을 달리하는 이담자균(Heterobasidiomycetous)인 *Tremella mesenterica*와 *Rhodospidium toruloides*에 대한 성 pheromone에 관해서만 정리해 보고자 한다.

Table 5. *Saccharomyces cerevisiae*의 a-factor.

①	H-Try-Ile-Ile-Lys-Gly- ^{Leu} / _{Val} -Phe-Trp-Ala-Asx-Pro
② MF _{a1}	Lys-Lys-Asp-Asn-Tyr-Ile-Ile-Lys-Gly-Leu-Phe-Trp-Asp-Pro-Ala-Cys-Val
MF _{a2}	Lys-Lys-Asp-Asn-Try-Ile-Ile-Lys-Gly-Val-Phe-Trp-Asp-Pro-Ala-Cys-Val
③	H-Try-Ile-Ile-Lys-Gly-Val-Phe-Trp-Asp-Pro-Ala-Cys

① Betz 등이 제출한 α -factor의 배열. Asx는 aspartic acid가 미지의 지용성기로서 수식된 구조를 보인다.

② Brake 등이 DNA cloning에 의하여 얻은 결과.

③ Thoner 등이 합성한 peptide.

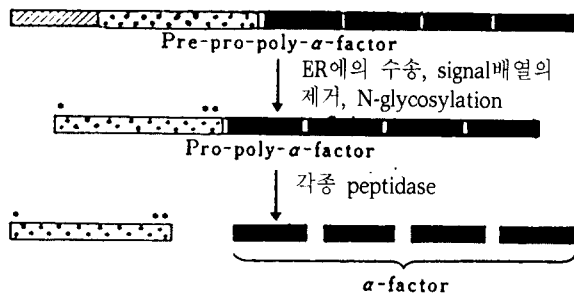


Fig. 2. α -factor 전구체 processing의 예상도.

■, α -factor ; ▨, signal배열 ; □, spacer protein ; ▤, N-glycosylation을 받는다고 예상되는 부위(*)를 포함하나 역할이 불분명한 부위.

*Tremella mesenterica*의 생활환에 대하여는 Fig 3에서 보이는 바와 같이 단핵세포는 A형, a형세포로서 서로 접합형을 달리한다. 이들 양 이형세포는 접합관을 신장시켜 접합하고, 2핵균사를 형성한다.

접합관의 형성은 상대의 접합형세포가 분비하는 성 pheromone(접합관유도물질)에 의하여 유도된다. Suzuki 등은 이 물질을 정제한 결과 A형세포가 분비하고 a형세포에 접합관 형성을 유도하는 물질을 tremero-gen A-10라 하고,

역으로 a형세포가 분비하고 A형세포에 접합관형성을 촉진시키는 물질을 tremero-gen a-13이라 하고 그 구조를 결정하였다. 또한 *T. mesenterica*에 근연한 균종인 *T. brasiliensis*의 접합관형성 유도물질인 tremero-gen A-9291-I을 단리하고 그 구조를 결정하였다. 이들 구조는 모두 Table 6에서 정리하였다.

한편, 이담자균효모 *Rhodosporium toruloides*⁴⁵⁾는 1배체세대에서는 접합형이 다른 heterothallic이다. 접합형 A형 또는 a형을 가지고 형태적으로 효모형태의 세포로서 출아 분열에 의하여 영양증식을 행하고 있다. Fig 4의 생활환에서 보이는 바와 같이 이들 영양세포는 서로 상대접합형영양세포에 접합관형성을 유도하는 성 pheromone을 생산분비한다. A형세포는 a형세포에 대하여 접합관형성을 유도하는 rhodotorucine A형을 구성적으로 분비하고 반대로 a형세포는 A형세포에 저해접합관을 유도하는 rhodotorucine a형을 유도적으로 분비한다. 양 효소는 각각 상대세포가 분비하는 성 pheromone을 수용하면 영양증식을 멈추고 접합관을 신장하며 생식세포로 분화한다.⁴⁶⁾ 그 후에 양접합관은 선단에서 융합하고 세포질혼합, 핵융합의 결과 2배체(heterodiploid)로 된다. 그리고 2배체세포는 감수분열 후에 포자를 형성하게 된다.

*R. toruloides*의 각각 접합형세포가 생산하는 성 phero-

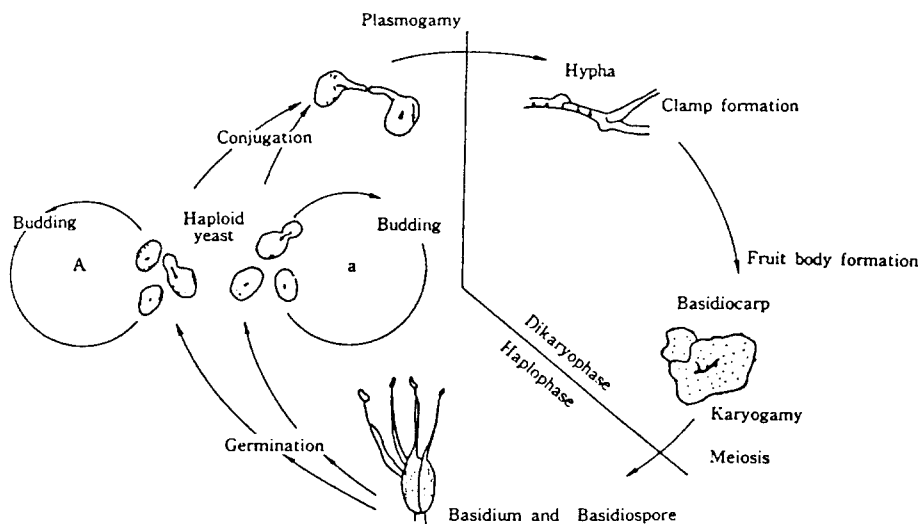


Fig. 3. *Tremella mesenterica*의 생활환.

Table 6. 이담자균효모의 성pheromone.

균 명	화학구조와 물질명
<i>Tremella mesenterica</i> (A형세포)	H-Glu-His-Asp-Pro-Ser-Ala-Pro-Gly-Asn-Gly-Tyr-Cys-OCH ₃ Tremrogen A-10
(a형세포)	H-Glu-Gly-Gly-Gly-Asn-Arg-Gly-Asp-Pro-Ser-Gly-Val-Cys-OH Tremrogen a-13
<i>Tremella brasiliensis</i> (A형세포)	H-Asp-Ser-Gly-Gly-Ser-Arg-Asp-Pro-Gly-Ala-Ser-Ser-Gly-Gly-Cys-OCH ₃ Tremrogen A-9291-1
<i>Rhodospidium toruloides</i>	H-Tyr-Pro-Glu-Ile-Ser-Trp-Thr-Arg-Asn-Gly-Cys-OH Rhodotorucine A

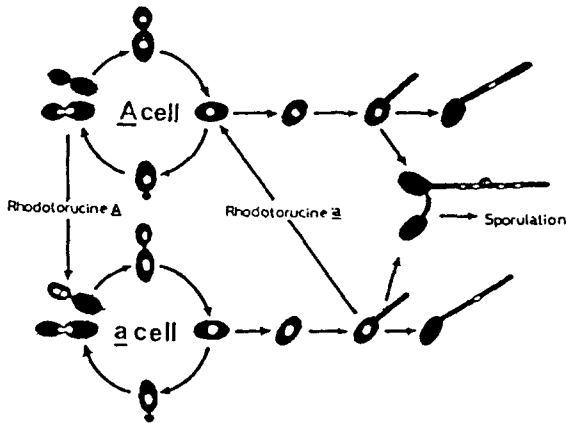


Fig. 4. *Rhodospidium toruloides*의 생활환.

mone중 A형세포가 분비하는 rhodotorucine A(Rh. A)는 Kamiya 등에 의하여 단리되고 구조가 결정되었다(Table 6참조). 그러나, a형세포가 분비하는 rhodotorucine a(Rh. a)는 Rh. A에 의하여 유도되어 생성되기 때문에 Rh. a만을 순수분리하기는 불가능하므로 현재까지도 구조가 밝혀지지 않은 상태이다.

Table 6에서 보이는 담자균효모유래 4종의 성pheromone에 대한 화학적구조에서 특징적인 점이라 하면 carboxyl말단에 위치하는 cystein잔기의 sulfydryl기가 직쇄의 farnesyl기 혹은 그의 산화된 기로서 수식되어 있는 구조를 함유하고 있다는 점이다. 이러한 특이적인 구조를 가지는 peptide는 이들 4종 외에는 알려진 바 없다.

담자균효모의 성pheromone의 생합성, 작용기구에 대한

연구는 *S. cerevisiae*에 비하면 거의 전무한 상태이다. 그 원인은 *Saccharomyces*의 생물학적, 유전학적연구는 장기간 계속되어 왔고 이에 반하여 *Tremella*, *Rhodospidium*에서는 그 배경의 연구가 거의 없다는 점을 들 수 있다.

그러나 최근에는 Miyakawa 등은 tremrogen A-10의

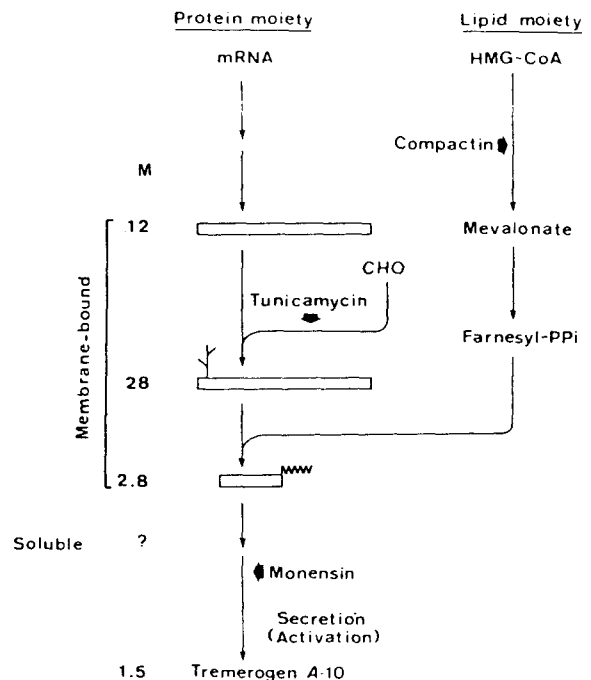


Fig. 5. Tremrogen A-10의 합성과 분비과정.

분자량(M)은 KDa임, HMG=3hydroxy-3 methyl-glnhtaryl.

항체를 이용하여 그 전구체라고 생각되는 단백질을 검출하여 이의 생합성경로의 모델을 Fig 5에서와 같이 정리하여 보고 하였다.⁴⁸⁾

또한 Miyakawa와 Jeong 등은 rhodotorucine A가 a형 세포에 의하여 대사되면서 그 정보를 a세포내로 전달하는

pheromone 정보의 전달기구에 대한 연구결과를 보고하고 있다.⁴⁹⁻⁵¹⁾ 최근, Akada 등은 *R. toruloides* A형 세포에서 rhodotorucine A gene의 cloning에 성공하여 이의 염기배열을 밝혔다.¹⁶⁾(Fig 6참조).

Rhodotorucine A의 peptide배열은 4 copy 존재하고 있고

```

-280      (Poly A) -260      HincII      -240
GGTTGCCCTTTTCCTTTTGTCTGTATTGTCAACGGATCGGCGCTCTCGCCGAAGTCT

-220      -200      -180
TCGTCCTTTTGTGGGTGTGTCCCGTCCGATTCCCGTCTGCCTTTGTTCGTCGATGCTGA

-160      -140      -120
CCTTTGTCCATTGTGCAGGCTTGTCTTGTCTCGTCTCCCCTTGTTCGCTGGCTATTTGA

-100      -80      mRNA START SITES
GAGCCGCTCGTCGTTTCGACGCTCTCTCCTTCTACATCCCTCCTCAGCCAACCTTTTC

-40      -20      1
GCCTTCCTCCTCTCCAAACACCCGCCTACTCTCCACACTTCAACAAC ATG GTC GCC
met val ala

          BglII      40
TAC CCC GAG ATC TCC TGG ACC CGC AAC GGC TGC ACC GTC TCC AAG
tyr pro glu ile ser trp thr arg asn gly cys thr val ser lys
*****

          60      80
TAC CCG GAG ATT TCG TGG ACC CGC AAC GGC TGC ACC GTC TCC AAG
tyr pro glu ile ser trp thr arg asn gly cys thr val ser lys
*****

100      BglII      120      140
TAC CCC GAG ATC TCG TGG ACC CGC AAC GGT TGC ACC GTC TCC AAG
tyr pro glu ile ser trp thr arg asn gly cys thr val ser lys
*****

          BglII      160      180
TAC CCG GAG ATC TCG TGG ACC CGC AAC GGT TGC ACC GTC GCC TAA
tyr pro glu ile ser trp thr arg asn gly cys thr val ala END
*****

          200      220      240
TCCTCCGttcggtcccgccctacctcacatcaccgcgcatgcccgttaacgctcctcccc

          260      280      300
ctcgcaGCTCAACCAATCCATCCGCCCCGCTCGCCTACCCTCTCCTCCTTCATTGTGCGT

          320      340      360
TCGTCGTCAAAGCAGGAAGTGGTCGGTGGAAACGGGTACGGGATCAAGGAGGAGGAAGAA

          380      400HindIII      420
GGAGGGGTGTTTGAGGAGGGTATCTTTATTTCGCGCAAGCTTGCATCGTCGTCCACACTC

          (Poly A)      460      480
GTTTTATACCGTGTTCGAGCGCCATATACGCGCCATATCCGAGAGAACTTGTGTAAGG

```

Fig. 6. Rhodotorucine A gene(RHA1 gene)의 nucleotide sequence.

Thr-Val-Ser-Lys의 4개의 아미노산이 사이에 끼어있는 것이 특이하다. 4개의 Rh. A peptide를 code하는 염기배열은 조금씩 다르지만, Rh. A의 peptide를 완전히 code할 수 있는 것임에 틀림 없었다. 또 c-말단에는 3 아미노산(Thr-Val-Ala)이 붙어 있었다.

Akada 등은 이러한 결과를 바탕으로 rhodotorucine A의 전구체를 합성할 수 있었고 그들 전구체의 활성을 검토한 결과, 세포내에 pheromone의 전구체가 processing된 후 성숙 pheromone이 되어야만 활성을 갖는다는 것을 명백히 밝혔다. 그리고 Fig. 7과 같은 processing과정을 제창하였다.

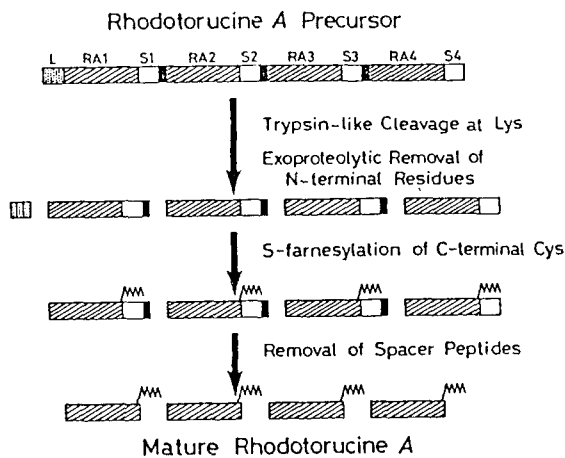


Fig. 7. Rhodotorucine A의 전구체로부터 성숙pheromone이 되기까지의 과정.

빗금부분이 rhodotorucine A peptide, 흰부위와 점선부위는 각각 spacer peptide와 N-terminal leader peptide, 검은부분은 lysine site를 가르킴.

참 고 문 헌

- Kalson, P., Luscher, M., *Nature*, **183**, 55-56(1959).
- Ensign, J., *Ann. Rev. Microbiol.*, **32**, 185-219(1978).
- Hirosawa, T., Wolk, C., *J. Gen. Microbiol.*, **114**, 433-441(1979).
- Kaiser, D., Manoil, C. and Dworkin, M., *Ann. Rev. Microbiol.*, **33**, 595-639(1979).
- Biro, S., Bekesi, I., Vitalis, S., Szabo, G., *Eur. J. Biochem.*, **103**, 359-363(1980).
- Auronson, S., In *Chemical Communication at the Microbial Level*, Vol. 1, CRC Press, Boca Raton, Florida (1981).
- Stephens, K., Hegemon, G. and White, D., *J. Bacteriol.*, **149**, 739-747(1982).
- Kochert, G., *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **29**, 461-486 (1978).
- Nanney, D., In *Microbial Interactions*, series B, *Receptors and recognition*, J. L. Reissing(ed.), Vol. 3, pp. 351-397, Chapman and Hall, London(1977).
- Schulze, Dieckhoff, H., Freiburg, M., and Heckmann, K., *Eur. J. Biochem.*, **168**, 89-94(1987).
- Akada, R., *J. Exp. Zool.*, **237**, 287-290(1986).
- Hanney, T., Duntze, W., Betz, R., In *Sexual Interactions In Eukaryotic Microbes*, C. D. O'Day P. Horgan(eds.), pp 21-51, Academic Press, New York(1981).
- Kurjan, J., Hersliowitz, I., *Cell*, **30**, 933-943(1982).
- Sprague Jr., G. Blair, L., Thorner, J., *Ann. Rev. Microbiol.*, **37**, 623-660(1983).
- Miyakawa, T., Tachikawa, T., Akada, R., Tsuchiya, E., and Fukui, S., *J. Gen. Microbiol.*, **132**, 1453-1458 (1986).
- Akada, R., Minomi, K., Yamashita, I., Miyakawa, T., and Fukui, S., *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 1211-1215 (1987).
- Fuller, R., Brake, A., Sterne, R., Kunisawa, R., Bornes, D., Flessel, M., and Thorner, J., In *Yeast Cell Biology (cetus-UCLA symposium on yeast cell biology)*, pp. 461-476., Alan. R. Liss, Inc., New York, 1986).
- Tomasz, A. Hotchkiss, R. D., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **51**, 480-487(1964).
- Morrison, D. A., Trombe, M. C., Hayclen, M. K., Waszak, G. A., Chen, J. D., *J. Bacteriol.*, **159**, 870-876 (1984).
- Oxowiecki, H., Nalecz, J., Dobrzanski, W. T., *Mol. Gen. Genet.*, **105**, 16(1969).
- Akrigg, A., Ayod, S. R., Barker, G. R., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **28**, 1062-1067(1967).
- Lacks, S., In *Microbial Interactions series B, Receptors*

- and recognition, J. L. Reissig(ed.), Vol. 3, pp.177-232, Chapman and Hall, London(1977).
23. Clewell, D., *Microbiol. Rev.*, **45**, 409-436(1981).
 24. Dunny, G., Brown, B., Clewell, D., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 3479-3483(1978).
 25. Clewell, D. B., Whith, B. A., Ike, Y., An, F., In *Microbial Development*(R. Losick and L. Shapiro eds.), Cold Spr. Harb. Press, Ltd.
 26. 池康嘉, 八十喜彦, Clewell, D. B., 蛋白質核酸酵素, **30**, 1133(1985).
 27. 森正明, 鈴木昭憲, 細胞工學別冊1, 64秀潤社, 東京(1986).
 28. 松原謙一, プラスミド, 請談社, 東京(1976).
 29. Dunny, G. M., Brown, B. L., and Clewell, D. B., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 3479(1978).
 30. Suzuki, A., Mori, M., Sakagami, Y., Isogori, A., Fujino, M., Kitada, C., Craig, R. A., and Clewell, D. B., *Science.*, **226**, 849(1984).
 31. Mori, M., Sakami, Y., Narita, M., Isogai, A., Fujino, M., Kitada, C., Craig, B. A., Clewell, D. B., and Suzuki, A., *FEBS Lett.*, **178**, 97(1984).
 32. Mori, M., Sakagami, Y., Isogai, A., Suzuki, A., Clewell, D. B. and Craig, R. A., "Peptide Chemistry 1984"(Izumiyama, N. ed.) p.43, Protein Research Foundation, Osaka(1985).
 33. Stoetzler, D. and Duntze, W., *Eur. J. Biochem.*, **65**, 257-262(1976).
 34. Tanaka, T., Kita, H., Murakami, T and Narita, K., *J. Biochem.*, **82**, 1681-1687(1977).
 35. Sakurai, A., Tamura, S., Uanagishima, N and Shimoda, C., *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 395-398(1977).
 36. Masui, Y, Chino, N., Sakakibara, S., Tanaka, T., Murakami, T., and Kita, H., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **78**, 534(1977).
 37. Sakamoto, M., Sokurai, A., Ichikawa, Y., Esumi, Y., Tanaka, H., Kifada, C., Fujino M., Yamagishima, N., and Takahashit, N., *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1279(1986).
 38. Brake, A. J., Brenner, C., Najarian, R., Laybourn, P., and Merryweather, J., In "Transport and secretion of protein", pp. 103-108, Cold Spring Harbor Laboratory, New York(1985).
 39. Sterne, R. E., and Thorner, J., (Abstr.) *Symposium of American Protein Chemists*, p. 38, San Diego, California, (1985).
 40. Douglass, J., Civelli, O., and Harbert, E., *Ann. Rev. Biochem.*, **53**, 665-715(1984).
 41. Bandoni, R. J., *Can. J. Bot.*, **43**, 627-630(1965).
 42. Sakagami, Y., Isogai, A., Suzuki, A., Tamura, S., Kitada, C., and Fujino, M., *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 2643-2645(1979).
 43. Sakagami, Y., Yoshida, M., Isogai, A., and Suzuki, A., *Science.*, **212**, 1525(1981).
 44. Inshibashi, Y., Sakagami, Y., Isogai, A., and Suzuki, A., *Biochem.*, **23**, 1399(1984).
 45. Banno, I., *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **13**, 167(1967).
 46. Abe, K., Kusaka I., and Fukui, S., *J. Bacteriol.*, **122**, 710-718(1975).
 47. Kamiya, Y., Sakurai, A., Tamura, A., Takahoshi, N., Tsuchiya, E., Abe, K., and Fukui, S., *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 363-369(1979).
 48. Miyakawa, T., Tabata, M., Tsuchiya, E., and Fukui, S., *Eur. J. Biochem.*, **147**, 489-293(1985).
 49. Miyakawa, T. Kaji, M., Jeong, Y. K., Tsuchiya, E. and Fukui, S., *J. Bacteriol.*, **162**, 294-299(1985).
 50. Miyakawa, T. Jeong, Y. K., Tsuchiya, E. and Fukui, S., *J. Bacteriol.*, **162**, 1304-1306(1985).
 51. Jeong, Y. K., Hiyakawa, T., Imabayshi, A., Tsuchiya, E., and Fukui, S., *Eur. J. Biochem.*, **109**, 511-515(1987).