● 原 著

Lactobacillus 属菌の phosphoenolpyruvate: hexose phosphotransferase system

長 崎 浩 伊 藤 和 代
松 崎 茂 展 田 中 修 二

高知医科大学 微生物学教室
高知県南国市岡豊町小蓮 〒783
〔受付: 3 月 9 日, 1992 年〕

Lactobacillus casei subsp. *casei* LAC3 株と *L. acidophilus* LAC5 株について phosphoenolpyruvate:hexose phosphotransferase system (hexose-PTS) の基質域を検討した。LAC3 株では glucose (Glc), mannose (Man), glucosamine (GcN), 2-deoxyglucose (2DG) および fructose (Fru) に対する活性, LAC5 株では Man および Fru に対する活性が証明され, これらはすべて構成性 (constitutive) であった。LAC3 および LAC5 株の増殖は 2DG により強く阻害され, それぞれから, 2DG 耐性変異株 DG329 および DG504 株を分離した。Glc を炭素源として培養した DG329 株では上記 LAC3 株の活性がすべて欠損していたが, DG504 株の PTS 活性は LAC5 株と同様であった。DG329 株では, 別に, Man および Fru を基質とする誘導性の PTS 活性が認められ, ともに Man, Fru および sucrose により誘導された。LAC3 株は GcN を炭素源として増殖し, この増殖は DG329 株では著明に障害された。LAC5 株は GcN に増殖しなかった。以上の成績から, LAC3 株は従来知られている広基質域・構成性 Man-PTS の外, Man および Fru を基質とする 1 つ, または 2 つの誘導性 PTS を持ち, 他方, LAC5 株は上記 Man-PTS を持たず, 代わって, Man および Fru を基質とする 1 つ, または 2 つの構成性 PTS を持つことが強く示唆された。

このほか, *L. fermentum* LAC12 株では, 既報 (Microbiol. Immunol. 36, 533-538, 1992) のように構成性 Man-PTS は存在したが, LAC3 株に見られるような誘導性 PTS 活性は見いだされなかった。

Phosphoenolpyruvate:carbohydrate phosphotransferase system (PTS) は細菌にのみ存在する特異な糖透過系である¹²⁾。通常の透過酵素 (permease) と異なり, 本系による膜透過は糖のリン酸化を伴う。PTS は通常, 4 種のタンパク質で構成される。酵素 I と, いわゆる HPr タンパク質は全 PTS に共通であり, 通常, 構成性 (constitutive) であるが, 酵素 II (必ず膜に局在する) と

III は糖特異的であり, 構成性, または誘導性である。酵素 II (および III) の基質特異性は比較的広いことが多く, 結果として, 各種 PTS の基質範囲は相互に重なり合う傾向がある。このことは, 細菌が用いる炭素・エネルギー源としてもっとも一般的な六炭糖, すなわち, glucose (Glc), mannose (Man) および fructose (Fru) について特に顕著である。

腸内細菌では3種の主要な hexose-PTS が知られている^{12,13)}。Glc-PTS は Glc, およびその類似体 methyl- α -D-glucoside (α MG) をおもな基質とし, Man-PTS は Man の外, Glc, glucosamine (GcN), 2-deoxy-D-glucose (2DG), および Fru を主要基質とする。これらはともに構成性であるが, この外に誘導性 Fru-PTS が存在し, 主として Fru を基質とする。

グラム陽性菌では乳酸菌, ことに, いわゆるホモ発酵菌 (homofermenters) に属するレンサ球菌諸属 (*Streptococcus*, *Lactococcus* および *Enterococcus* 属) の hexose-PTS が比較的詳しく検討されている。口腔レンサ球菌 (ことに *S. salivarius* と *S. mutans*) の hexose-PTS は従前知られるものの中ではもっとも多彩であり, 構成性 Glc-, Man-, および Fru-PTS の外, 株によってはさらに誘導性 Man-, または Fru-PTS を持つことが知られている^{2,10,17)}。乳酸レンサ球菌 (ことに *Lactococcus lactis*) の hexose-PTS の構成は単純であり, 構成性 Man-PTS を中心に, 時に誘導性 Fru-PTS を持つが, Glc-PTS は持たない^{15,16)}。類似の構成は *E. faecalis* でも報告されている⁶⁾。上記以外のホモ発酵菌, ことに *Lactobacillus* 属菌の hexose-PTS については, 先にわれわれが報告したもの⁷⁾を除き, あまりまとまった報告はない。ヘテロ発酵菌 (heterofermenters) は従来, PTS を欠くものとされていたが¹²⁾, 最近, われわれは *L. fermentum* (以下略号 *L.* は *Lactobacillus* に対してのみ使用する) の1株で構成性 Man-PTS を見だし, 報告した⁸⁾。

本論文は, *Lactobacillus* 属菌における PTS の分布と構成の探索をさらに進めるため, *Lactobacillus* 属菌 I, II および III 群⁴⁾ から1種1株ずつを選び, hexose-PTS の基質パターン, および, その他の PTS の存否を検討したものである。その結果, I および II 群菌2株で従来知られたものとは異なる基質 (または誘導) 特異性をもつ hexose-PTS の存在が示唆された。

材料と方法

菌株: *L. acidophilus* (I 群) LAC5 株 (YIT 0179) および *L. fermentum* (III 群) LAC12 株 (YIT 0082) は (株) ヤクルト本社中央研究所, *L.*

casei subsp. *casei* (II 群) LAC3 株は徳島大学医学部栄養衛生学教室より, それぞれ分与された。

培地: LAC3 および LAC12 株に用いた基礎培地 85A の組成は既報⁸⁾ のとおりである。培地 85A に 0.1% (v/v) Tween 80 を加えたものを培地 86 とし, LAC5 株に使用した。

発酵試験: API 50 CH (API System, France) 試験は附属指示書により行った。ただし, 被検菌は 1% Glc 加基礎培地に 37°C で1夜密栓静置培養し, 洗浄後, 生理食塩水に再浮遊させて使用した。2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) 寒天平板による発酵試験^{8,9)} は 37°C で 48 時間の嫌気培養により行った。

増殖試験: 各種の糖 (1%) を加えた基礎培地を用い, 既報⁸⁾ の方法により行った。2DG および α MG による増殖阻害試験は, 1% sucrose (Scr) または mannitol (Mtl) を含む基礎培地に 1% 2DG または α MG を添加し, 増殖試験と同様の方法により行った。

変異株の分離: LAC5, LAC3, および LAC12 株より 2DG 耐性変異株 DG504, DG329, および DG1204 株をそれぞれ分離した。変異誘導には N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (NG) を使用した⁷⁾。DG504 株は NG 処理 LAC5 株を 1% Scr・1% 2DG 加培地 86 で2回, 密栓静置培養後, TTC-Glc 寒天平板 (嫌気培養) 上の一集落として分離した。DG329 株は NG 処理 LAC3 株を 1% Mtl・0.2% 2DG 加培地 85A で3回振盪 (好氣的) 培養後, 同組成寒天平板 (5% CO₂ 存在下の好気培養) 上の大集落として分離した。DG1204 株の分離方法は既報⁸⁾ のとおりである。

PTS 活性の測定: 各野生株および変異株は各種の糖 (1%) を主要炭素・エネルギー源兼誘導因子 (inducer) として含む基礎培地で培養した。LAC5 株とその変異株は 37°C で20時間, GasPak 装置 (BBL) 内で嫌氣的に攪拌 (マグネチック・スターラー) 培養した。LAC3 株とその変異株は 37°C で3~4.5時間, 好氣的に振盪培養した。LAC12 株とその変異株は 30°C で20時間, 密栓静置培養した。集菌, 洗浄, 菌浮遊液の調製, トルエン処理, および菌体タンパク質定量の方法は既報⁸⁾ のとおりである。活性の測定は Kornberg ら⁵⁾ の方法に準じて行った。反応液組成および測定方法

表1 使用 *Lactobacillus* 属菌 3 株の糖発酵能

株	糖 発 酵 ^{a)}											
	Glc	Man	Fru	Scr	Tre	Mal	Cel	Gal	Lac	Mtl	Gct	Rib
LAC 5	+	+	+	+	+	+w	+	—	+	—	—	—
LAC 3	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+w	+
LAC12	+	+	+	+	—	+	—	+	+	+w	+w	+

^{a)} API 50 CH による (37C, 48 時間)。糖名略号は本文参照。

+, 陽性; +w, 弱陽性; —, 陰性。

は既報⁸⁾のとおりである。比活性は nmol ピルビン酸生成/min/mg 菌体タンパク質として表示した。

成 績

使用菌の糖利用能：使用 *Lactobacillus* 属菌 3 株の糖発酵能を API 50 CH により検定し、主要 12 糖についての成績を表 1 に示した。これらの成績は、LAC 5 株が galactose (Gal) 陰性である点を除き、おおむねそれぞれの種の典型的性状⁴⁾と合致した。ほぼ同様の成績はこれら各糖を用いた増殖試験からも得られた (成績略)。ただし、LAC 5 株の maltose (Mal), および LAC12 株の Mtl は増殖試験ではともに陰性であった。API 50 CH 試験に含まれない GcN は増殖試験では LAC 3 株で陽性、LAC 5 および LAC12 株では陰性であった。

2DG による増殖阻害：構成性 Man-PTS を持ち、Glc-PTS を持たない *Lactococcus lactis* の増殖は 2DG の存在下で強く阻害されるが、 α MG では阻害されない¹⁶⁾。使用 *Lactobacillus* 種 3 株を Scr または Mtl を炭素源として培養し、上記 2 物質による増殖阻害の有無を検討した (表 2)。これら 3 株の増殖はいずれも 1% 2DG により強く阻害される一方、 α MG ではまったく阻害されず、これらの点で 3 株間に差異は見いだされなかった。これら 3 株に由来する 2DG 耐性変異株では、DG504 および DG1204 株がほぼ完全に耐性、DG329 株はやや不完全に耐性であることが確認された。DG 329 株を Scr を炭素源として培養すると、0.2% 2DG では耐性を示したが、1% 2DG では増殖が強く阻害された (成績略)。この差異の原因は明らかでない。

表2 2DG による増殖阻害

株	炭素源 ^{a)}	増 殖 ^{b)}		
		無添加	+ α MG	+ 2DG
LAC 5	Scr	100 (270)	100	8
DG504 ^{c)}	Scr	100 (266)	100	98
LAC 3	Mtl	100 (370)	100	18
DG329 ^{c)}	Mtl	100 (365)	100	70
LAC12	Scr	100 (310)	100	7
DG1204 ^{c)}	Scr	100 (312)	98	95

^{a)} 各炭素源 (1%) を含む基礎培地に α MG または 2DG (ともに 1%) を添加。37C で 24 時間密栓静置培養。糖名略号は本文参照。

^{b)} 菌濁度 (Klett unit) %。無添加対照の濁度 (カッコ内) を 100% に設定。

^{c)} 2DG 耐性変異株。

Hexose-PTS 活性：腸内細菌で知られている 3 種の hexose-PTS の主要基質は、合わせて α MG, Glc, Man, GcN, 2DG および Fru の 6 種になる^{12,13)}。使用 *Lactobacillus* 種 3 株とそれらの変異株を各種の糖存在下で培養し、上記 6 基質に対する PTS 活性を測定した (表 3)。ただし、LAC12 株については既報⁸⁾との重複を避けるため、Scr 培養菌の成績のみ提示した。

野生株 3 株はいずれも α MG に対する活性を示さず、いわゆる Glc-PTS¹²⁾ を欠くことは *Lactobacillus* 属共通の特性であることが示唆された。この所見は、これら 3 株の増殖がともに α MG で阻害されない事実 (表 2) と一致した。*Lactobacillus* 属菌が α MG に対する PTS 活性を示さないことは、これまでにも *L. casei*^{1,7)}, *L. helveticus* および *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*³⁾ で報告されている。

表3 Hexose-PTS 活性

株	炭素源 ^{a)}	比 活 性 ^{b)}					
		α MG	Glc	Man	GeN	2DG	Fru
LAC 5	Glc	<10	<10	70	<10	<10	150
	Man	<10	<10	110	<10	<10	310
	Fru	<10	<10	50	<10	<10	90
	Scr	<10	<10	60	<10	<10	120
	Tre	ND	<10	40	ND	ND	110
	Lac	ND	<10	80	ND	ND	310
DG504 ^{c)}	Scr	<10	<10	50	<10	<10	70
LAC 3	Glc	<10	120	130	100	70	70
	Man	ND	120	170	170	120	120
	Fru	ND	80	220	130	70	180
	Scr	ND	80	130	70	70	160
	Rib	ND	120	120	100	60	50
DG329 ^{c)}	Glc	<10	<10	<10	10	<10	20
	Man	ND	20	80	30	<10	90
	Fru	ND	10	110	20	<10	130
	Scr	ND	10	100	ND	ND	130
	Mal	ND	<10	30	ND	ND	40
	Cel	ND	<10	20	ND	ND	30
	Rib	ND	<10	10	10	<10	10
LAC12	Scr	<10	180	160	140	160	50
DG1204 ^{c)}	Fru	<10	<10	10	<10	<10	10
	Scr	ND	<10	<10	<10	<10	<10

a) 各炭素源（1%）を含む基礎培地で培養。糖名略号は本文参照。

b) nmol/min/mg protein. 各糖（5 mM）を基質とし、Kornberg ら⁵⁾の方法により測定。
ND, 測定せず。

c) 2DG 耐性変異株。

I 群菌 LAC 5 株はきわめて特徴的な基質パターンを示し、Man および Fru に対する構成性活性が顕著である反面、Glc、GeN および 2DG に対してはまったく活性を示さなかった。このことは本菌が Glc-PTS のみならず、いわゆる Man-PTS¹²⁾をも持たないことを強く示唆するものである。上記 Man および Fru に対する活性は炭素源の種類により若干変動したが、後者が前者より高いという関係は常に維持された。2DG 耐性変異株 DG504 株の基質パターンは基本的には親株と同一であった。この外にも独立に 2 変異株を分離したが、結果は同じであった（成績略）。このことは、もともと LAC 5 株が 2DG に対する PTS 活性を示さないことによる当然の結果と考えられ、本菌におけ

る 2DG 感受性の原因が PTS 以外のところにあることを示すものであろう。

II 群菌 LAC 3 株では α MG を除く 5 基質すべてに対する活性が認められ、これらは構成性であった。変異株 DG329 株では、Glc および ribose (Rib) 培養菌で見る限り、上記活性のすべてがほぼ完全に消失し、本菌がこれら 5 糖を基質とする典型的 Man-PTS を保有することが示された。他方、本変異株の Man、Fru および Scr 培養菌では、これら 3 糖で誘導され、Man および Fru を基質とする高い PTS 活性が証明された。両活性とも Man では若干弱く誘導され、また、いずれの培養菌でも Man に対する活性が Fru に対するものよりやや低い傾向が認められた。なお、Scr による誘導は、

おそらく, Scr から生じた Fru によるものと推測される。同様の成績は先に, 同じく *L. casei* subsp. *casei* である LCC1 株でも報告した⁷⁾。LCC1 株はその後の検討で, 嫌気条件下ではほとんど増殖せず, gluconate (Gct) のみならず Glc から少量のガス (CO₂ ?) を生じるなど, *L. casei* としてはやや非定型であることが明らかとなったため, 今回, LAC3 株により再確認したものである。

既報⁸⁾のように, III 群菌 LAC12 株では α MG 以外の 5 糖を基質とする構成性 PTS (Man-PTS) 活性が見いだされ, この活性は変異株 DG1204 株では完全に消失した。DG329 株と異なり, Man および Fru に対する誘導性活性 (Fru 培養菌) は証明されなかった。

その他の PTS 活性: LAC5 株で Scr⁻, および trehalose (Tre) -PTS 活性が検出された (表4)。これらは一見, 誘導性であるが, Man 培養菌の活性が異常に高いことを考慮すると基本的には構成性である可能性も否定できない。Cellobiose (Cel) および lactose (Lac) に対する活性はともに検出されなかった (成績略)。

LAC3 株の Man-PTS 欠損変異株 DG329 株では Scr, Tre, Gal および Mtl に対する誘導性活性が検出されたが (表4), Mal, Cel, Gct および Rib に対する活性は検出されなかった (成績略)。これらの所見は, Scr に対する活性を除き, 既報⁷⁾ LCC1 株 (本株は Scr⁻ である) の変異株 LCC17 株の成績と一致した。DG329 株に見られる Scr に対する活性は, その誘導パターンが前述の Man および Fru に対する活性のそれ (表3) に酷似するため, これが独立の Scr-PTS によるとは即断できない。Scr の分解で生じた Fru による見かけ上の活性である可能性もあり, さらに検討が必要である。

変異株の糖利用能: 上述の野生株および変異株計6株について, 六炭糖4種と Scr の利用能を増殖試験により検討した (表5)。

LAC3 株の変異株 DG329 株における明白な糖利用障害は GcN にのみ出現し, Glc, Man, Fru および Scr の利用は, 本法で判定する限りほぼ正常であった。このことは本菌による Glc, Man および Fru の利用に構成性 Man-PTS が不可欠でないことを示しており, 変異株に残存する誘導性

表4 その他の PTS 活性

株	炭素源 ^{a)}	比 活 性 ^{b)}			
		Scr	Tre	Gal	Mtl
LAC5	Glc	10	10	ND	ND
	Man	140	70	ND	ND
	Fru	<10	<10	ND	ND
	Scr	80	<10	ND	ND
	Tre	<10	50	ND	ND
	Lac	30	<10	ND	ND
DG329 ^{c)}	Glc	40	20	<10	30
	Man	70	30	<10	110
	Fru	130	40	<10	40
	Scr	140	ND	ND	ND
	Tre	30	120	ND	30
	Gal	ND	20	60	30
	Mtl	ND	20	ND	270
	Rib	20	10	<10	10

a, b, c) 表3 脚注参照。

表5 2DG 耐性変異株の増殖試験

株	増 殖 ^{a)}				
	Glc	Man	GcN	Fru	Scr
LAC5	100	100	ND	100	100
DG504 ^{b)}	50	140	ND	97	100
LAC3	100	100	100	100	100
DG329 ^{b)}	87	90	58	95	95
LAC12	100	100	ND	100	100
DG1204 ^{b)}	62	38	ND	100	100

a) 各糖 (1%) を含む基礎培地に 37C で 24 時間密栓静置培養。糖名略号は本文参照。Klett unit (KU) の % (野生株=100%) で表示。野生株の濁度は, LAC5 株の Man (180KU) を除き, 250~300KU。ND, 測定せず。

b) 2DG 耐性変異株。

“Man-または Fru-PTS” (表3), および, 少なくとも Glc については非 PTS 性透過酵素がかなりの程度にこれを代償しうることを示唆するものである。他方, LAC12 株では Man-PTS の役割が大きく, 変異株 DG1204 株の Glc および Man の利用は著明に障害された。ただし, この場合にも障害は完全ではなく, 非 PTS 性透過機構のある程度

の関与が推測された。本変異株の Fru 利用は正常であり、Fru の透過における Man-PTS の役割は小さいものと考えられた。なお、LAC 5 株の変異株 DG504 株で Glc の利用障害が認められたが、このことと 2DG 耐性との関係は今のところ明らかでない。

考 察

上述の LAC 5, LAC 3 および LAC12 株における構成性 hexose-PTS の基質パターンを、これまで報告された 5 種 5 株の乳酸菌と比較して表 6 に示した。PTS 基質のスペクトルは口腔レンサ球菌 2 種 (*S. salivarius* および *S. mutans*) でもっとも広く、これらの菌が 3 種の構成性 PTS (Glc-, Man-, および Fru-PTS) を持つことの結果である。*Lactococcus lactis*, *E. faecalis*, *L. casei* subsp. *casei* (LAC 3 株を含む) および *L. fermentum* (LAC12 株) は相互に類似したパターンを示し、これら諸菌が上記 3 PTS 中、Man-PTS のみを持つことの反映である。この観点からすると、基質域の広いいわゆる Man-PTS を欠く *L. acidophilus* LAC 5 株の基質パターンは他に類例がなく、本菌特有である。本菌の構成性 hexose-PTS 活性が、単一の PTS によるか、Man および Fru のそれぞれに対応する別々の PTS によるかは今後明らかにされねばならないが、いずれにしろ、Man を基質としうる構成性 PTS としては従来の Man-PTS と大きく異なることは確かであろう。この種の PTS が乳酸菌の中でどの程度普遍的であるかについては、今後、菌種の範囲を広げて検討する必要

があろう。

上記との関連で注目されるのは、LAC 3 株の変異株 DG329 株で見いだされる Man および Fru を基質とする誘導性活性 (表 3) である。この場合には、これら 2 活性が互いの基質により交差誘導 (cross-induction) され、かつ、いずれの基質に対しても Fru の誘導効果が大きいなどの点から、単一の PTS である可能性が高い。Man と Fru を共通の基質とする mannofructokinase が各種の細菌で報告されている^{11,14)} ことから見ても、ありそうなことと思われる。上述の LAC 5 株のものと合わせ、今後検討を要する課題である。なお、Man および Fru でそれぞれ誘導される誘導性 Man-, および Fru-PTS が *S. mutans* の別々の株で報告されている^{2,10)}。これらが相互に交差誘導されるという報告はないが、上記 DG329 株のものと何らかの関連を持つ可能性はある。

L. acidophilus における各種 PTS の報告は本報が最初である。I 群菌としては *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* と *L. helveticus* で 2DG を基質とする PTS 活性 (おそらく Man-PTS) の検出が報告されている³⁾。このことからすると、LAC 5 株に見られる特有の基質パターンは I 群菌のすべてに共通とは言えないことになる。今後の検討が必要である。

各種細菌が多様な PTS を持つに至った過程は、ある 1 つの原型から出発した遺伝子重複 (gene duplication) と、それに引き続く変異による多様化 (diversification) より成ると考えられている¹²⁾。PTS の分布が、糖代謝の Embden-Meyerhof-

表 6 各種乳酸菌における構成性 hexose-PTS の基質域

種	株	PTS 活性 ^{a)}					文 献
		α MG	Glc	Man	2DG	Fru	
<i>Streptococcus salivarius</i>	ATCC 25975	+	+	+	+	+	Vadeboncoeur ¹⁷⁾
<i>S. mutans</i>	DR0001	+	+	+	+	+	Vadeboncoeur ¹⁷⁾
<i>Lactococcus lactis</i>	ML3	—	+	+	+	+	Thompson ら ¹⁵⁾
<i>Enterococcus faecalis</i>	STR 2	—	+	+	+	+	呂岡ら ⁶⁾
<i>Lactobacillus fermentum</i>	LAC12	—	+	+	+	+	Nagasaki ら ⁸⁾ ; 本論文
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	LCC 1	—	+	+	+	+	長崎ら ⁷⁾
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	LAC 3	—	+	+	+	+	本論文
<i>L. acidophilus</i>	LAC 5	—	—	+	—	+	本論文

a) 各糖を基質とする構成性 PTS 活性の存 (+) 否 (—)。糖名略号は本文参照。

Parnas 経路の分布とそっくり重なる事実¹²⁾を考慮すると、この経路を持つ代表的菌群であるホモ発酵性乳酸菌における PTS の分布と構成の解明は、PTS の多様化の過程を探る上で有効な 1 つのアプローチとなりうると考えられる。

文 献

- 1) Chassy, B.M. and Thompson, J. (1983) : Regulation and characterization of the galactose-phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system in *Lactobacillus casei*. J. Bacteriol. **154**, 1204-1214.
- 2) Gauthier, L., Mayrand, D., and Vadeboncoeur, C. (1984) : Isolation of a novel protein involved in the transport of fructose by an inducible phosphoenolpyruvate fructose phosphotransferase system in *Streptococcus mutans*. J. Bacteriol. **160**, 755-763.
- 3) Hickey, M.W., Hillier, A.J., and Jago, G.R. (1986) : Transport and metabolism of lactose, glucose, and galactose in homofermentative lactobacilli. Appl. Environ. Microbiol. **51**, 825-831.
- 4) Kandler, O. and Weiss, N. (1986) : Genus *Lactobacillus*. 1209-1234, In: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., and Holt, J.G. (eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, Williams & Wilkins, Baltimore.
- 5) Kornberg, H.L. and Reeves, R.E. (1972) : Correlation between hexose transport and phosphotransferase activity in *Escherichia coli*. Biochem. J. **126**, 1241-1243.
- 6) 邑岡麻子, 伊藤和代, 長崎 浩, 田中修二 (1991) : *Enterococcus faecalis* の phosphoenolpyruvate:carbohydrate phosphotransferase system (PTS). 日細菌誌 **46**, 515-522.
- 7) 長崎 浩, 田中修二 (1986) : *Lactobacillus casei* 一菌株の phosphoenolpyruvate:sugar phosphotransferase system. 日細菌誌 **41**, 709-716.
- 8) Nagasaki, H., Ito, K., Matsuzaki, S., and Tanaka, S. (1992) : Existence of phosphoenolpyruvate:carbohydrate phosphotransferase systems in *Lactobacillus fermentum*, an obligate heterofermenter. Microbiol. Immunol. **36**, 533-538.
- 9) 長崎 浩, 伊藤和代, 松崎茂展, 田中修二 (1992) : *Lactobacillus* 属のための改良テトラゾリウム寒天培地. 日細菌誌 **47**, 511-514.
- 10) Néron, S. and Vadeboncoeur, C. (1987) : Evidence for the presence of two distinct phosphoenolpyruvate:mannose phosphotransferase systems in *Streptococcus mutans* GS5-2. FEMS Microbiol. Lett. **42**, 7-11.
- 11) Porter, E.V., Chassy, B.M., and Holmlund, C.E. (1980) : Partial purification and properties of a mannofructokinase from *Streptococcus mutans* SL-1. Infect. Immun. **30**, 43-50.
- 12) Postma, P.W. and Lengeler, J.W. (1985) : Phosphoenolpyruvate:carbohydrate phosphotransferase system of bacteria. Microbiol. Rev. **49**, 232-269.
- 13) Postma, P.W. (1987) : Phosphotransferase system for glucose and other sugars. 127-141, In: Neidhardt, F.C., Ingraham, J.L., Low, K.B., Magasanik, B., Schaechter, M., and Umberger, H.E. (eds.), *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*, Cellular and Molecular Biology, vol. 1, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 14) Sebastian, J. and Asensio, C. (1972) : Purification and properties of the mannokinase from *Escherichia coli*. Arch. Biochem. Biophys. **151**, 227-233.
- 15) Thompson, J. and Saier, M.H., Jr. (1981) : Regulation of methyl- β -D-thiogalactopyranoside-6-phosphate accumulation in *Streptococcus lactis* by exclusion and expulsion mechanisms. J. Bacteriol. **146**, 885-894.
- 16) Thompson, J. and Chassy, B.M. (1982) : Novel phosphoenolpyruvate-dependent futile cycle in *Streptococcus lactis*: 2-deoxy-D-glucose uncouples energy production from growth. J. Bacteriol. **151**, 1454-1465.
- 17) Vadeboncoeur, C. (1984) : Structure and properties of the phosphoenolpyruvate:glucose phosphotransferase system of oral streptococci. Can. J. Microbiol. **30**, 495-502.

Phosphoenolpyruvate:hexose phosphotransferase systems in *Lactobacillus* species

Hiroshi NAGASAKI, Kazuyo ITO, Shigenobu MATSUZAKI and Shuji TANAKA

Department of Microbiology, Kochi Medical School,
Okoto, Nankoku, Kochi 783, Japan

The substrate range of phosphoenolpyruvate:hexose phosphotransferase systems (hexose-PTSs) in *Lactobacillus casei* subsp. *casei* LAC 3 and *L. acidophilus* LAC 5 was examined. Strain LAC 3 demonstrated PTS activities for glucose (Glc), mannose (Man), glucosamine (GcN), 2-deoxyglucose (2DG) and fructose (Fru), while strain LAC 5 showed the activities only for Man and Fru. These activities were all constitutive. Growth of both strains was strongly inhibited by 2DG. 2DG-resistant mutants DG329 and DG504 were isolated, respectively, from strains LAC 3 and LAC 5. Mutant DG329 grown on Glc was defective in all the above-described activities observed with strain LAC 3, whereas no defect in PTS activities was found in mutant DG504. Mutant DG329, however, showed some inducible activities for Man and Fru when grown on Man, Fru or Scr. These results strongly suggest that strain LAC 3 has inducible PTS(s) specific for Man and/or Fru besides the well-known, broadly specific, constitutive Man-PTS, and also that strain LAC 5 lacks the Man-PTS, but has other constitutive PTS(s) specific for Man and/or Fru.

L. fermentum LAC12 had the Man-PTS as reported previously (Nagasaki et al., 1992), but had no inducible activities like those found in strain LAC 3.