

343

Trichoderma viride C₁, C_x 型エキソ及びエンドセルラーゼによる
アビセル分解相乗作用

(九大農化) ○後藤正利 中林正章 古川謙介 林田晋策

(目的) *Trichoderma viride* HK-75 が産生する Exo I (C₁) は、反応初期段階でアビセルからセロビオースを生成し、セロオリゴ糖をセロビオース、セロトリオース単位で分解するエキソタイプのセルラーゼであり、パパイン消化により、アビセル吸着能及び同分解能を特異的に失った Exo I' (C_x) とアビセル吸着能を有するアビセル親和部位 GPExo に変換する。今回は、本菌の産生する水溶性基質分解パターンを異にするアビセル糖化型の3種のエンドセルラーゼのうち、Exo I と最も顕著な相乗作用を示す Endo III の結晶セルロース親和部位の取得並びに C₁, C_x 型エキソ及びエンドセルラーゼによるアビセル分解相乗作用について報告する。

(方法と結果) Endo III (Mw; 61,000) に 1/300 量のパパインを添加し、30°C、12 h 反応後、各種クロマトグラフィーにて精製を行い、Endo III' (Mw; 43,000) と GPEndo (Mw; 12,000) を取得した。Endo III' は、Endo III に比べてアビセル吸着能及び同分解能をそれぞれ 1/6、1/3 に低下したが、Endo III と同様、顕著な糖転移能を保持し水溶性基質分解能は intact Endo III と同一であった。一方、GPEndo は 19% の糖鎖を含む糖ペプチドで、顕著なアビセル吸着能を示した。以上の結果から、Exo I と同様、Endo III は触媒能を持った Endo III' と吸着能を有した親和部位 GPEndo から構成されており、エンドセルラーゼにおいても親和部位の欠失により C₁ が C_x へと変換することが明かとなった。ついで、結晶セルロースの分解における相乗作用について、C₁ 型酵素として Exo I 及び Endo III を用い、また C_x 型酵素として Exo I' 及び Endo III' を用いて検討を行った結果、C₁ タイプ同士の Exo I 及び Endo III 共存下で、最もアビセル分解の相乗効果が認められ、エキソあるいはエンド型酵素の一方が、C_x タイプである場合、相乗効果は低下した。つまり、結晶セルロース分解を効率よく行うには、親和部位を有する C₁ タイプ同士の作用機作を相異なるセルラーゼによる共同作用が重要であることが明示された。

Synergistic actions on the Avicel-hydrolysis by the C₁ and C_x types of exo- and endocellulases from *Trichoderma viride*.

○Masatoshi Goto, Masaaki Nakabayashi, Kensuke Furukawa, and Shinsaku Hayashida (Dept. of Agric. Chem., Kyushu Univ.)

344

清酒麹菌 (*Aspergillus oryzae*) のグルコアミラーゼの生澱粉分解活性について

(月桂冠 総合研) ○秦 洋二、川戸章嗣、今安 聡

(醸造資源研) 田村學造 (醸造試験所) 五味勝也、北本勝ひこ、熊谷知栄子

【目的】演者らは清酒麹菌 (*Aspergillus oryzae*) のグルコアミラーゼ (GA) の分子レベルでの解析を行うため、その遺伝子及び cDNA をクローニングし、塩基配列を決定した。その結果、*A. oryzae* の GA には、*A. niger* の GA に存在するセリンとスレオニンに豊富な領域 (TS 領域) が欠失していることが明らかとなった^{1), 2)}。一方、*A. oryzae* の GA は *A. niger* の GA に比べて、生澱粉分解活性が低い事が知られている。*A. oryzae* の GA における TS 領域の欠失と生澱粉分解活性との関係を明らかにするため、その cDNA を酵母に導入し、発現された GA を用いて生澱粉分解活性について検討を行った。

【方法及び結果】cDNA を導入した形質転換酵母から分泌された GA を精製した結果、分子量が SDS-PAGE より 67 kD、糖含量が 6% であった。一方、*A. oryzae* (RIB40) を用いた清酒麹から精製された GA は、糖含量が平均で 50%、SDS-PAGE による分子量が 70-120 kD である¹⁾。生澱粉分解活性について、清酒麹から精製された GA は、殆ど生澱粉を分解しないのに対し、形質転換酵母から得られた GA には、強い生澱粉分解活性を持つ *A. niger* と同程度の生澱粉分解活性が検出された。また、EndoH による糖鎖を除去した結果、SDS-PAGE による分子量は、酵母の GA では、cDNA から類推される分子量サイズである 65 kD にシフトするのに対し、麹からの GA では 50 kD に分子量が減少した。またペプチドマッピングの結果より、この分子量の減少は C 末端部分のドメインのプロセッシングによることが示唆された。

1) Y. Hata et al.: Agric. Biol. Chem., 55, 941 (1991) 2) Y. Hata et al.: Gene, 108, 145 (1991)

Ability of raw-starch digestion of *Aspergillus oryzae*-glucoamylase

Yoji Hata, Akitsugu Kawato, Satoshi Imayase (Research Institute, Gekkeikan Co.), Gakuzo Tamura (Research Institute of Brewing Resources), Katsuya Gomi, Katsuhiko Kitamoto, Chieko Kumagai (National Research Institute of Brewing)