

355

Cellvibrio gilvus の β -グルコシダーゼ遺伝子の構造

農水省 食総研 ○ 柏木豊、青柳千佳、佐々木堯、谷口肇

(目的) セルロース資化性菌 Cellvibrio gilvus は菌体外に多種類のセルラーゼを生産し、このセルラーゼ系はセルロースを分解してセロビオースを効率的に生産する特徴を持つ。すでに演者らは本菌のセルラーゼ系に属する β -グルコシダーゼ遺伝子のひとつをクローニングし、大腸菌によって生産した酵素を精製してその特性を明らかにした⁽¹⁾。本研究では本菌の β -グルコシダーゼ遺伝子の全塩基配列を決定し、遺伝子の構造を解明することを目的とした。

(方法及び結果) C. gilvus の β -グルコシダーゼ遺伝子を持つ組換えファージ λ CG23 は既に得られているが、これの挿入断片を pT7T318U にサブクローニングして活性を発現する組換えプラスミド pCG5 を取得した。そこで、pCG5 の挿入断片の塩基配列をデアザ dGTP を用いた dideoxy 法で決定した。決定した 3177bp 中に全長 2565bp の ORF が存在し、翻訳開始点 ATG の 5' 上流域に SD 配列およびプロモーターと考えられる配列を見いだした。本 ORF の G+C% は 69.4% でありコドンの各位置の G+C% はそれぞれ 76, 60, 72% であった。ORF から推定される 854 アミノ酸のポリペプチド鎖には、32 アミノ酸のシグナルペプチド配列と精製酵素の N 末端アミノ酸 11 残基に相当する配列が確認された。さらに本酵素のアミノ酸配列はすでに知られているいくつかの β -グルコシダーゼと高い相同性を示す領域を持ち、Legler らが示した Aspergillus wentii β -グルコシダーゼ A3 の活性部位に相当する配列⁽²⁾ を含むことが明かとなった。

(1) Y. Kashiwagi et.al., Agric. Biol. Chem., 55, 2553 (1991)

(2) G. Legler et.al., Eur. J. Biochem., 101, 85 (1979)

Nucleotide sequence of the β -glucosidase gene from Cellvibrio gilvus

○ Yutaka Kashiwagi, Chika Aoyagi, Takashi Sasaki, and Hajime Taniguchi

(National Food Research Institute, M.A.F.F.)

356

メタン生成細菌 Methanobacterium thermoformicum SF-4 のアスパラギン酸トランスアミナーゼ遺伝子の解析 (大阪市大・理) (*大阪医大・医化)

○ 大井 進、田中俊雄、守屋達樹、山本知史、谷口 誠、*林 秀行、*鏡山博行

【目的】メタン生成細菌は CO_2 から炭素同化を行い、ケト酸を経てトランスアミナーゼ作用によりアラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸を生成する。M. thermoformicum SF-4 のアスパラギン酸トランスアミナーゼ (AspAT) は通常 43KD のサブユニット 4 分子からなる会合体として存在し、通電処理で容易に単量体へと解離する。他種起源の AspAT とかなり異なる構造を有しているものと思われるので、その一次構造を明らかにしようとした。

【方法および結果】SF-4 の染色体 DNA の精製は M. wolfei の自己溶菌液を用い嫌気条件下で溶菌処理し、Marmur 法に準じて行った。得られた DNA 中に AspC が存在することは、プローブ 1-5 を用いてサザンハイブリダイゼーションにて確認した。クローニングには、EcoR I による DNA 断片を用いた。まず AspAT 遺伝子を保有する E. coli クローンを選択した。当クローンより調製されたプラスミッド pSYE5 は pUC18 の EcoR I サイトに全長 3.4Kb の挿入断片を有しており、その断片中には ATG で始まる一つの ORF (1.2Kb) が存在していた。その塩基配列中には AspAT の N-末端およびプロテアーゼ消化でえられた各ペプチドのアミノ酸配列をコードする領域の存在が確認された。また、翻訳開始点の上流にメタン生成細菌の遺伝子に特有のリボゾーム結合領域および転写開始領域と考えられる配列が存在した。SF-4 株の AspAT の一次構造は Sulfolobus を含めた他種起源のものとなっていた。

Structure of Aspartate-aminotransferase genes of Methanobacterium thermoformicum SF-4. © Susumu Oi, Toshio Tanaka, Tatsuki Moriya, Satoshi Yamamoto, Makoto Taniguchi, *Hideyuki Hayashi and *Hiroyuki Kagamiyama (Osaka City Univ., *Osaka Medical College)