

547 醤油用麹菌 *Aspergillus oryzae* のセルラーゼ遺伝子 *celB* の解析
(愛知食工技、*三重大・生物資源)

○北本則行、柳生香奈恵、木村哲哉、鬼頭幸男、大宮邦雄*

1. 目的 醤油用麹菌 *Aspergillus oryzae* の生産するセルラーゼやペクチナーゼは、醤油諸味の粘度低下をもたらす、圧搾性を高めることが知られている。しかし、その詳細は不明である。演者らは、これらの酵素の醤油原料の分解特性を解明する目的で、遺伝子レベルから解析を行っている。今回は、セルラーゼ遺伝子 *celB* のクローニングを行ったので報告する。

2. 方法及び結果 *Trichoderma* などのセロビオヒドロラーゼ (CBH) 遺伝子間で保存性の高いアミノ酸配列領域をもとにプライマーを合成し、*A. oryzae* KBN 616株の染色体DNAを鋳型としてPCRを行った。その結果増幅された184bpの断片の推定アミノ酸配列は、CBHの推定アミノ酸配列と約50%の相同性を示していた。そこで、これをプローブとして遺伝子ライブラリーをスクリーニングして得られたクローンの塩基配列を決定した。その結果、本遺伝子がコードするセルラーゼはCBHより *Trichoderma* EGI と相同性が高いことがわかった。現在、本遺伝子の麹菌における発現を試みている。

Structural analysis of a cellulase gene *celB* from *Aspergillus oryzae*

○Noriyuki Kitamoto, Kanae Yagyu, Tetsuya Kimura, Yukio Kito, Kunio Ohmiya* (Food Res. Inst., Aichi Prefectural Govt., *Fac. of Bioresources, Mie Univ.)

[Key Words] *Aspergillus oryzae*, cellulase, gene cloning

548 *Aspergillus aculeatus* セルラーゼ (FI-CMCase) 遺伝子のプロモーター解析

(宇都宮大・農、*大府大・農) °大井俊彦、本多純子、小林猛也、村尾澤夫*、荒井基夫*

【目的】誘導酵素である *A. aculeatus* のFI-CMCaseは、培養時の炭素源により生産量は大きく変動する。演者らは *A. aculeatus* のFI-CMCase遺伝子をクローニングしその塩基配列をも決定した(1)。本研究ではFI-CMCase遺伝子の発現誘導に必須な領域を解析する目的で、FI-CMCase遺伝子の欠失プロモーターを構築し、β-ガラクトシダーゼ遺伝子をレポーター遺伝子として用いて検討した。

【方法および結果】*A. aculeatus* を用いたノザン解析の結果、FI-CMCase遺伝子はセルロース性物質を炭素源とした場合にのみ転写レベルで発現されていた。そこでFI-CMCase遺伝子の種々の5'上流領域欠失プロモーターとβ-ガラクトシダーゼ遺伝子とを連結した融合遺伝子を構築し、*A. nidulans* WG355株 (*argB2*, *biA1*, *bga0*) を形質転換した。得られた形質転換株のβ-ガラクトシダーゼ活性を検討した結果、-321bpまでの5'上流領域が誘導発現に必須であり、本酵素の発現はCM-セルロースによって誘導され、グルコースによって抑制された。誘導酵素として既に報告されている他の *Aspergillus* 属遺伝子のプロモーター領域との比較から、誘導発現に関与すると考えられる相同性の高い領域が2ヶ所観察された。(1) Ooi T., et al: *Nucl. Acids Res.*, 18, 5884 (1990)

Promoter analysis of a FI-CMCase Gene from *Aspergillus aculeatus*.

°Toshihiko Ooi, Junko Honda, Takeya Kobayashi, *Sawao Murao, *Motoo Arai (Fac. Agric., Utsunomiya Univ. and *Dept. Agric., Univ. of Osaka Prefecture)

[Key Words] *Aspergillus aculeatus*, cellulase gene, promoter region