

721

Aspergillus aculeatus No.F-50 由来の FlA-キシラナーゼ遺伝子の酵母による発現

(大阪府大・農・応生化、*北大・工・分子化学)
川口剛司、大井俊彦*、木下晋一*、荒井基夫

○小森賢二、炭谷順一、

【目的】 *A. aculeatus* からは9種類のセルラーゼと4種類のキシラナーゼが既に単離精製されており、その諸性質が明らかにされている。それらの酵素群のうち FlA-カルボキシメチルセルラーゼ、 β -グルコシダーゼ1、そしてFlA-キシラナーゼは、すでにcDNA 及びゲノムDNA から遺伝子が取得されている。その中で FlA-キシラナーゼ遺伝子については、大腸菌において大量発現され、発現産物の性質が確認されている¹⁾。本研究では酵母における発現について報告する。

【方法及び結果】 酵母のベクター YEp3 に pYPHO5 222- Δ 10 由来の GAP プロモーターを組み込み、その下流に FlA-キシラナーゼ遺伝子全長をコードする cDNA (1.3 kb) を挿入し構築した発現ベクターを、*Saccharomyces cerevisiae* CG379 に導入した。培養の結果、菌体外にキシラナーゼ活性が認められた。そこで、YEPD 培地で7日間、30℃で培養し、培養上清を硫酸塩析後、各種カラムクロマトグラフィーにより電気泳動的に単一のキシラナーゼの精製標品を得た。電気泳動の結果から推定される分子量は 33 KDa であり、オーセンティックな酵素の 32 KDa よりも若干大きくなった。比活性は特に変化は無かった。至適温度は、大腸菌で発現させた際には 45℃ だったが、酵母ではオーセンティックな酵素と等しく 55℃ であった。

1) 日本生物工学会大会講演要旨集 P.144 (1995)

Expression of FlA-xylanase gene from *Aspergillus aculeatus* No.F-50 in *Saccharomyces cerevisiae*.

○Kenji Komori, Jun-ich Sumitani, Takashi Kawaguchi, *Toshihiko Ooi, *Shinichi Kinoshita, Motoo Arai, (Dept. Appl. Biol. Chem., Univ. Osaka Pref., *Dept. Mol. Chem, Univ. Hokkaido)

【Key Words】 Xylanase, *Aspergillus aculeatus*, Expression

722

好酸性細菌 *Acidobacterium capsulatum* 由来のキシラナーゼの精製及び諸性質の検討

(岡山大・農) ○中平 健, 向井和久, 田村 隆, 稲垣賢二, 田中英彦

【目的】 好酸性細菌 *A. capsulatum* は、至適pHを酸性側に有する種々の糖質関連酵素を生産している。我々は本菌中にセルラーゼ活性を見だし、同遺伝子が大腸菌中にクローニングした¹⁾。同遺伝子は、405 アミノ酸をコードする1,215 bpのopen reading frameからなり、その推定アミノ酸配列は、Cellulase・Xylanase Family Fに属する酵素と高い相同性を示した。今回は、クローン株より本酵素を精製し、諸性質の検討を行った。

【方法】 大腸菌クローン株の培養は2×TY培地を用い、37℃で好氣的に行った。菌体を25mM クエン酸リン酸緩衝液(pH5.5)に懸濁後、超音波破碎し、粗酵素溶液を調整した。これをCM-Toyopearl, Butyl-Toyopearlの各クロマトグラフィーを用いて電気泳動的に均一に精製した。酵素活性は、DNS法を用い、525nmの吸光度の増加により測定した。

【結果】 クローン株から精製したキシラナーゼは、分子量41,000の単一のポリペプチドからなるモノマー酵素であることが明らかになった。反応至適pHは5.0、至適温度は60℃であった。また本酵素は、pH 2.5 - 7.5 の酸性領域で安定であり、等電点は7.3であった。さらに本酵素は、セロオリゴ糖を基質に用いた場合、エンド型の切断パターンを示した。

1) 稲垣賢二ら、日本農芸化学会1995年度大会講演要旨集, p.95

Purification and Characterization of Xylanase from *Acidobacterium capsulatum*.

○Ken Nakahira, Kazuhisa Mukai, Takashi Tamura, Kenji Inagaki, Hidehiko Tanaka (Dept. of Bioresources Chemistry, Faculty of Agriculture, Okayama Univ.)

【Key Words】 Xylanase, Cellulase, *Acidobacterium capsulatum*, Acidophile