

- 804 *Fusarium heterosporum* リパーゼの安定性に関与しているC末端ペプチドの領域とアミノ酸残基の特定
(大阪市工研) ○永尾寿浩、島田裕司、杉原耿雄、富永嘉男

【目的】*Fusarium heterosporum* のリパーゼcDNAを酵母で発現させたとき、リパーゼB (301アミノ酸残基)とリパーゼA (275と26アミノ酸残基)が生産される。リパーゼBはリパーゼAよりも非常に安定性に優れていることから、触媒ドメイン(275アミノ酸残基)とC末端ペプチド(26アミノ酸残基)がペプチド結合しているとき、C末端ペプチドが酵素の構造を強化していると推定される。そこで、C末端ペプチド内で安定性に関与しているアミノ酸残基およびペプチド領域について調べた。

【方法及び結果】 C末端ペプチドが切断されない変異型酵素(R275A)の遺伝子を鋳型として、C末端側からのデレーション変異株、およびC末端ペプチドの26残基のアミノ酸変異株を作成した。これらの遺伝子を酵母内で発現させたところ、C末端側よりの13残基のペプチド領域とAsp293側鎖の負電荷が酵素の安定性と生産量に重要であることが分かった。また、Asp293の負電荷は触媒ドメインに存在する正電荷をもったアミノ酸残基とイオン結合していると推定される。

【将来の展開】本研究により、酵素の構造と安定性の関係の解明が期待できるだけでなく、リパーゼBは原株である*F. heterosporum*では生産されていないことから、新規な安定性の高いリパーゼ剤の供給も可能である。

Amino acid residues participating in the stability of *Fusarium heterosporum* lipase.
○Toshihiro Nagao, Yuji Shimada, Akio Sugihara, and Yoshio Tominaga,
(Osaka Municipal Tech. Res. Inst.)

【Key Words】 lipase, stability, *Fusarium heterosporum*, C-terminal peptide

- 805 *S. pombe* での異種タンパク質大量分泌発現ベクターの構築
～シグナルペプチドの改変～
(長岡技科大・生物) ○若松 恵、樋口 史晃、野川 優洋、
岡田 宏文、森川 康

【目的】我々は糸状菌 *Trichoderma reesei* 由来セルラーゼ・キシラナーゼ群の個々の酵素を分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* を宿主として発現させてきた。その結果、エンドグルカナーゼII (EG II) が440 μ g/mlと最も分泌されたが、EG IIIは70 μ g/mlであり各酵素の分泌量には大きな差が見られた。そこで、*S. pombe*での異種タンパク質大量分泌発現系の構築を目的として、まずシグナルペプチドの改変を試みた。

【方法及び結果】*T. reesei*由来EG IIIをレポーターとして、そのシグナルペプチドを比較的分泌量の高かった同菌由来EGII、セロビオハイドロラーゼII (CBH II) およびキシラナーゼII (XYN II) のシグナルペプチドに置換し、各々を*S. pombe*で発現させた。その結果、*S. pombe*培養上清のCMCase活性はEG IIのシグナルペプチドを用いた場合0.9 U/mlとnativeと同程度であったものの、XYN IIのシグナルペプチドを用いたときには1.5 U/ml、CBH IIのシグナルペプチドを用いたときには2.5 U/mlとnativeの約3倍にまで増加した。現在、それぞれのシグナルペプチドが正確にプロセッシングされているかどうかの確認を行っている。

Construction of the expression vector for foreign protein secretion in *S. pombe*
○Megumi Wakamatsu, Fumiaki Higuchi, Masahiro Nogawa,
Hirofumi Okada, Yasushi Morikawa (Dept. Bioeng., Nagaoka Univ. Technol.)

【Key Words】 signal peptide, secretion, *Schizosaccharomyces pombe*, cellulase