

525

担子菌 *Irpex lacteus* エンド型セルラーゼ遺伝子の単離と解析
 (信州大・繊維・応生科、*信州大・工学・物質、**信州大・遺伝子)
 ○戸田 弘、藤崎浩二、小平律子、野川優洋、下坂 誠、
 天野良彦*、神田鷹久*、岡崎光雄**

【目的】我々は担子菌 *Irpex lacteus* の生産するエンド型セルラーゼ、エキソ型セルラーゼの相乗作用の解明を目指して、遺伝子のクローニングと異種宿主による発現を検討してきた。これまでに担子菌 *I. lacteus* の生産するエキソ型セルラーゼの遺伝子をクローニングし、糸状菌 *Aspergillus oryzae* において単独発現させた。¹⁾そこで今回は担子菌 *I. lacteus* の生産するエンド型セルラーゼ遺伝子のクローニングを試みた。

【方法及び結果】*I. lacteus* より精製したエンド型セルラーゼ En-1 の部分アミノ酸配列より PCR プライマーを設計した。炭素源として CMC を用いたマンデルス培地で 3 日間培養した *I. lacteus* の菌体より抽出した全 RNA に対し RT-PCR を行った。これにより増幅した約 600bp の断片が En-1 の部分アミノ酸配列をコードしていることを確認した。この断片をプローブとして *I. lacteus* のゲノムライブラリーより En-1 断片を含む陽性クローンをスクリーニングした。現在 En-1 遺伝子の全長配列の決定を行っている。

1)日本農芸化学会 2001 年度大会講演要旨集、p.183

Cloning and characterization of endoglucanase gene from white rot fungi *Irpex lacteus*.

○Hiroshi Toda, Kouji Fujisaki, Ritsuko Kodaira, Masahiro Nogawa, Makoto Shimosaka, Yoshihiko Amano*, Takahisa Kanda*, Mitsuo Okazaki**

Dept. Applied Biol., Shinshu Univ., *Dept. Chem. & Mat. Engn., Shinshu Univ.,

**Gene Research Center, Shinshu Univ.

【Key words】*Irpex lacteus*, endoglucanase, gene cloning

526

麹菌 *Aspergillus oryzae* キトサナーゼ遺伝子の単離と構造解析
 (信州大・繊維・応生科、*信州大・遺伝子)

○宮澤 恭、清水由美子、野川優洋、小平律子、下坂 誠、岡崎光雄*

【目的】糸状菌キトサナーゼの生理的役割を解明するために、酵素学的性質を明らかにするとともに、遺伝子の単離と構造解析を進めている。既に、麹菌 *A.oryzae* IAM2660 株の培養上清よりキトサナーゼと β -グルコサミニダーゼを精製した。今回、キトサナーゼ遺伝子の 1 つをクローニングし、その配列を解析した。

【方法及び結果】今回単離したキトサナーゼ遺伝子と当研究室で報告した植物病原性糸状菌 *Fusarium solani* SUF386 株のキトサナーゼ遺伝子のアミノ酸配列における相同性は 45%であった。また、最近、データベース上に登録された他の糸状菌キトサナーゼ配列にも高い相同性を示し、これらの糸状菌キトサナーゼに対して、糖質加水分解酵素の新たな分類である family75 が提唱された。*A.oryzae* 2660 株には、さらに他のキトサナーゼ遺伝子の存在が考えられたため、現在、クローニングを試みている。また、*F.solani* SUF386 株のキトサナーゼ遺伝子 cDNA の大腸菌における発現系を構築し、糸状菌キトサナーゼ間でよく保存されている 3 個の Glu 残基を点突然変異により Gln 残基に置換した。変異タンパクの活性を測定した結果、Glu169 が活性中心の 1 つであると考えられた。

Cloning and characterization of chitosanase genes from the koji mold, *Aspergillus oryzae*

○Takashi Miyazawa, Yumiko Shimizu, Ritsuko Kodaira, Masahiro Nogawa, Makoto Shimosaka, Mitsuo Okazaki*

(Dept. Applied Biol., Shinshu Univ., *Gene Research Center, Shinshu Univ.)

【Key words】*Aspergillus oryzae*, chitosanase, gene cloning.