

**1D15-5 エタノールストレス応答における酵母 mRNA 核外輸送因子の局在変化**○竹村 玲子, 井沢 真吾, 井上 善晴  
(京大院・農・応生科)

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* では、エタノールストレスおよびヒートショックにより大部分の poly(A)<sup>+</sup> mRNA の核外輸送が抑制される一方で、SS44 などのヒートショックプロテインをコードする mRNA は優先的に核外輸送されることが知られている。しかしながら、このような選択的 mRNA 輸送の制御機構の全容ははまだ解明されていない。そこで、mRNA 核外輸送因子のストレス応答反応が選択的 mRNA 核外輸送の制御にどのように影響するのか、醸造と関わりの深いエタノールストレスを中心に検討した。

mRNA 核外輸送因子の GFP 融合タンパク質を作製し、ストレス条件下での細胞内局在を観察した。その結果、Rat8p などの複数の因子についてエタノールストレスによる局在の変化が観察された。エタノール濃度の変化に応じて可逆的かつ速やかに局在が変化することなどから、エタノールストレスに対する応答反応として mRNA 核外輸送因子の局在が変化することを確認した。このような輸送因子の局在変化には、核膜流動性の変化が深く関与することを新たに見出した。また、局在の変化を誘導する最小エタノール濃度(6%) が mRNA の輸送阻害を誘導する最小濃度と一致することなどから、ストレス条件下の mRNA 核外輸送が輸送因子の局在変化によって制御されている可能性が強く示唆された。さらに、ヒートショックとエタノールストレスでは、局在が変化する輸送因子に違いが見られたことから、ストレス種により mRNA 核外輸送の制御機構が異なると考えられた。

**Ethanol stress causes the changes in the localization of yeast mRNA export factors.**○Reiko Takemura, Shingo Izawa, Yoshiharu Inoue  
(Kyoto Univ. Grad. School Agric. Div. Appl. Life Sci.)**Key words** stress response, mRNA export, ethanol stress, yeast, nucleocytoplasmic transport, heat shock**1D16-2 液体麹の酵素生産性に対する麹菌難分解性デキストリン添加の効果**○杉本 利和, 洞口 健一, 長谷川 裕寿  
(アサヒビール酒類研)

【目的】液体培養により製麹した麹（以下、液体麹）では、通常の固体麹と比較して酵素生産性が著しく低下することが知られており、実際の酒類醸造に用いられた例は少ない。我々は酒類醸造に利用可能な液体麹製造を目的に、液体麹の酵素高発現方法について検討を行なっている。そこで本研究では、酵素発現を誘導する基質の検索ならびにその添加効果を検討した。

【方法と結果】ツァベックドックス培地に種々炭素源を 2% 添加した培地にて *Aspergillus oryzae* RIB40, *Aspergillus kawachii* IFO4308, *Aspergillus awamori* IFO4388 を培養し、その酵素生産性を比較した。その結果、水溶性食物繊維などの麹菌難分解性のデキストリンを培地に添加すると、グルコアミラーゼ、 $\alpha$ -アミラーゼ、 $\alpha$ -グルコシダーゼ等の多くの酵素活性が、通常のデキストリンを添加した場合に比べ顕著に上昇することを確認した。またこのとき、培養系内のグルコース濃度を測定したところ常に低濃度に維持されており、炭素源律速状態で培養が進行していた。以上の結果、デキストリンの持つ酵素誘導能に加え、グルコースリプレッションの解除が同時に起こることにより酵素高発現していると予想された。麹菌難分解性デキストリンを含む培地により *A. kawachii* IFO4308 を培養した液体麹と液化処理した大麦を用いた全工程液相の麦焼酎小仕込み試験を行なったところ、通常の固体麹仕込みと同等品質の焼酎製造が可能であった。

**Effect of undegradable dextrin on extracellular enzyme production in submerged culture of industrial fungus *Aspergillus*.**○Toshikazu Sugimoto, Kenichi Horaguchi, Hirohisa Hasegawa  
(ASAHI BREWERIES)**Key words** aspergillus, submerged cultivation, undegradable dextrin, enzyme production, shochu making**1D16-1 麹菌 *Aspergillus oryzae* の新規  $\beta$ -1,3-グルカナーゼの解析**○佐野 元昭, 高瀬 久美子, 戸田 智美, 町田 雅之  
(産総研)

【目的】糸状菌や担子菌等に含まれる  $\beta$ -1,3-グルカンは抗腫瘍活性が期待されるが、近年の研究により、高分子の  $\beta$ -1,3-グルカンは消化吸収が悪く、ある程度の大きさ分解にすることが重要であると報告されている。そこで我々は、欧米諸国でもその安全性が認められている麹菌 *Aspergillus oryzae* から、 $\beta$ -1,3-グルカン分解酵素である  $\beta$ -1,3-グルカナーゼ遺伝子を取得し解析を行ったので報告する。

【方法および結果】現在、麹菌コンソーシアムを中心としたゲノム解析プロジェクトが進行しており、その解析データから  $\beta$ -1,3-グルカナーゼ遺伝子を探したところ、新規  $\beta$ -1,3-グルカナーゼ遺伝子が 2 つ見いだされた。これらの  $\beta$ -1,3-グルカナーゼ遺伝子は、これまでに *A. oryzae* よりクローン化された遺伝子とは相同性が低く新規遺伝子であった。また、これら  $\beta$ -1,3-グルカナーゼは、相同性解析の結果より endo 型と exo 型であることが予測された。今回発見された  $\beta$ -1,3-グルカナーゼ遺伝子の DNA 配列中にはイントロンの存在が認められた。そこで、これらの遺伝子が強く発現する炭素源にグルコースを含まない条件下で培養して RNA を抽出し、完全長 cDNA を取得することにより、現在大腸菌での大量発現を試みている。

**Analysis of  $\beta$ -1,3-glucanase from *Aspergillus oryzae***○Motoaki Sano, Kumiko Takase, Tomomi Toda, Masayuki Machida  
(AIST)**Key words** *Aspergillus oryzae*,  $\beta$ -1,3-glucan, endo- $\beta$ -1,3-glucanase, exo- $\beta$ -1,3-glucanase**1D16-3 白麹菌の GPI アンカー型細胞壁タンパク質**○中村 洋二郎<sup>1</sup>, 下飯 仁<sup>2</sup>, 伊藤 清<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> 広大院先端研, <sup>2</sup> 酒類総合研究所)

【目的】細胞表層は、細胞が外界と最初に接触する部分であり、そこには細胞外界の情報や、物質の内部への取り込み、細胞間認識・接触等に関わるタンパク質が多数存在している。また培地に直接アクセスできるのは細胞表層であり、細胞表層の機能は醸造・発酵のような実用的な面においても大きな意味を持つ。麹菌のような糸状菌の細胞表層についてはあまり解析されていないが、今回細胞壁タンパク質の局在性等について検討したので報告する。

【方法及び結果】白麹菌 (*A. kawachii* IFO 4308) を使用した。細胞壁タンパク質の候補 (CwpA, CwpB) は、T/S に富み、N 末端には典型的なシグナルペプチドが、C 末端には脂肪酸アミノ酸のみで構成される疎水性領域が存在することがわかった。これは GPI アンカー型細胞壁タンパク質の典型的な特徴である。そこで、cwpA 遺伝子にタグ遺伝子である 3 × HA を付加して融合遺伝子を作成し、これを白麹菌に導入した。この形質転換株の細胞壁、細胞膜、細胞外分泌画分を取得し、ウェスタン解析を行うことによって CwpA の局在性を検討した。その結果、形質転換株の細胞膜画分にのみ顕著な抗原抗体反応が認められた。よって、CwpA は GPI アンカー型細胞壁タンパク質であるが、細胞壁ではなく細胞膜に局在していると考えられた。

**Cell wall proteins of *Aspergillus kawachii***○Yojiro Nakamura<sup>1</sup>, Hitoshi Shimoi<sup>2</sup>, Kiyoshi Ito<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> Grad. Sch. Adv. Sci. Matter, Hiroshima Univ., <sup>2</sup> Natl. Res. Inst. Brewing)**Key words** cell wall protein, GPI anchor, *Aspergillus kawachii*