

642 *Aspergillus niger* 種内融合株におけるミトコンドリアDNAの解析

(早大・理工) ○桐村光太郎・岩田 和久・福田 賢・宇佐美昭次

1. 目的 演者らは、プロトプラスト融合法によるクエン酸生産菌 *A. niger* の育種を目的とした研究を行っている。¹⁾今回は、融合2倍体株、半数体化株のミトコンドリアDNA (mt-DNA) を制限酵素により消化し、その切断パターンを親株のそれと比較した。

2. 方法 系統の異なる親株としては Yang no. 2と WU-2223L を使用した。2倍体株としては LY-DW-005と LY-DY-204を、半数体化株としては LY-HW-005, -014 (LY-DW-005 より誘導)、LY-HY-209, -210 (LY-DY-204 より誘導) を使用した。供試菌の菌糸を溶菌酵素で処理してプロトプラストを調製し、これを破碎して遠心分離により分画を行い、粗ミトコンドリア画分より mt-DNA を抽出した。

3. 結果 既に、親株である Yang no. 2と WU-2223L の mt-DNA については、簡単な制限酵素地図を作成している。²⁾両者は環状でほぼ同じ大きさ (約 32 kbp) であるが、

Hind III による切断パターンに一部相違がある。そこで、とくにこの点に留意し、融合株の mt-DNA を制限酵素により消化し、切断パターンの比較を行った。2倍体株 LY-DW-005 では WU-2223L 型の切断パターンが観察され、半数体化株 LY-HW-005, -014においても同様であった。一方、2倍体株 LY-DY-204では Yang no. 2型の切断パターンが観察され、半数体化株 LY-HY-209, -210においても同様であった。

1) Kirimura, K. et al.: J. Ferment. Technol., 66, 375 (1988).

2) 岩田, 中嶋, 玉井, 桐村, 宇佐美: 1989年度農化大会講演要旨集, p. 363.

Mitochondrial DNAs of the Intraspecific Fusants of *Aspergillus niger*

○Kohtaro Kirimura, Kazuhisa Iwata, Satoshi Fukuda, and Shoji Usami

(School of Science and Engineering, Waseda University, Tokyo 169)

643

麹菌 (*Aspergillus oryzae*) リボヌクレアーゼ T_2 遺伝子のクローニング

O尾関健二*・五味勝也・北本勝ひこ・高橋康次郎・田村學造*・原 昌道

(醸試、*(株)醸造資源研)

1. 目的 醸造産業上、幅広く利用されている麹菌 *Aspergillus oryzae* は、各種有用酵素を菌体外に分泌する。既に Tada ら¹⁾により、タカアミラーゼ A 遺伝子がクローニングされているが、他の酵素のクローニング例は、極く僅かである。

演者らは、タカアミラーゼ A 遺伝子の高発現プロモーター部位との塩基配列を比較検討する目的で、リボヌクレアーゼ T_2 (RNase T_2) 遺伝子のクローニングと、形質転換株での発現を試みた。

2. 方法及び結果 *A. oryzae* RIB 40 ゲノム DNA の EMBL 3 フェージバンク、1万ブラークから、Kawataら²⁾により決定された RNase T_2 の一次構造に基づいて、N 末端、C 末端合成 DNA プローブを作製し、両プローブと共にハイブリダイズする、4 個のポジティブクローンを取得した。このフェージ DNA の HindIII 消化後の、約 4.8 Kb DNA 断片を、pUC 118 にサブクローニングし、ダイデオキシ法により、塩基配列を決定中である。

また、4.8 Kb の HindIII 断片を、麹菌用プラスミド pSal 23 に挿入し、形質転換 (*A. oryzae* M-2-3) を行ったところ、培地中に活性の上昇が認められた。

1) S. Tada et al.: Agric. Biol. Chem., 53, 393 (1989)

2) Y. Kawata et al.: Eur. J. Biochem., 176, 683 (1988)

Cloning of the Ribonuclease T_2 Gene of *A. oryzae*

OKenji Ozeki*, Katsuya Gomi, Katsuhiko Kitamoto, Kojiro Takahashi, Gakuzo Tamura

*, and Shodo Hara (National Research Institute of Brewing, *Research Institute of Brewing Resources Co., Ltd., Takinogawa, Kita-ku, Tokyo 114)