



キノコの窒素代謝とプロテアーゼ阻害剤

キノコの自然界における窒素源は木やわら、腐植質に含まれるタンパク質とアミノ酸である。培養基に含まれるタンパク質は栄養菌糸が産生する菌体外プロテアーゼにより分解され、菌糸のタンパク質やその他の窒素化合物を生合成する素材として菌糸に吸収される。やがて子実体発生が始まると栄養生長期に菌糸中に蓄積した窒素化合物が分解され、子実体発育の窒素給源として利用される。子実体発生にはとくに菌体外から窒素の供給を必要としない。したがって、子実体の発生における栄養菌糸の役割は栄養生長における培養基の栄養素の役割にかなり相似している。¹⁾

キノコの発生のための栄養菌糸中の主たる窒素給源はタンパク質である。²⁾ アミスギタケの場合、子実体の発生が始まると酸性およびアルカリプロテアーゼ活性が上昇し、³⁾ また、エノキタケの場合は中性に至る pH があるメタルプロテアーゼ活性の上昇⁴⁾ が報告されている。寺下らは、放線菌の生産するプロテアーゼ阻害剤 S-PI (Streptomyces-Pepsin Inhibitor) をアミスギタケ、⁵⁾ エノキタケ、⁶⁾ シイタケ、⁶⁾ ヒラタケ⁷⁾ の栄養菌糸に添加すると子実体形成が促進され、子実体収量が大幅に増加することを見出した。S-PI は栄養菌糸を培地に接種するときに添加しても効果がなく、子実体発生を誘導する際に添加すると効果が顕著であった。S-PI 処理したコロニーの栄養菌糸では酸性プロテアーゼ活性が低下し、アルカリプロテアーゼ⁸⁾ あるいはメタルプロテアーゼ活性が上昇することから、^{4,8)} S-PI による子実体増収効果はその直接の作用である酸性プロテアーゼ活性の阻害にもとづくものではなく、S-PI 添加により誘起されるアルカリプロテアーゼあるいはメタルプロテアーゼの活性上昇により菌糸タンパク質の分解が促進され、栄養菌糸から子実体へ転流するアミノ酸量が増加することが一因と考えられる。

S-PI の効果は食用キノコの瓶栽培でとくに顕著で

ある。ヒラタケの圃場栽培試験では S-PI 処理により子実体が 2~3 倍増収すると報告されている。⁷⁾ キノコに取り込まれると考えられる S-PI の安全性が確認されれば、食用キノコの増産と栽培の省力化に効果が期待できる。

- 1) 北本：菌草，24 (9)，29 (1978)。
- 2) 北本ら：日菌報，21，237 (1980)。
- 3) 寺下，河野，村尾：醸酵工学，56，175 (1978)。
- 4) 寺下，河野，村尾：日本農芸化学会大会要旨集，p. 207 (1979)。
- 5) 寺下，河野，村尾：日菌報，18，129 (1977)。
- 6) 寺下，河野，村尾：日菌報，21，137 (1980)。
- 7) 寺下ら：醸酵工学，59，55 (1981)。
- 8) Terashita, T., et al.: Agric. Biol. Chem., 45, 1929 (1981)。

(鳥取大・農化・北本 豊)

Saccharomyces 酵母宿主における異種タンパク質の発現

遺伝子操作を用い微生物によって有用物質を生産するための技術はこの数年予想以上の速さで進んで来ている。今までの成功例はすべて大腸菌 (*E. coli*) 宿主を用いたものである。しかし *Saccharomyces cerevisiae* (以下酵母とする) を宿主とすることも考えられているが未だ分子生物学的知見が少なく、応用するところまで進んでいない。

酵母菌体に異種タンパク質を産生させた例として *E. coli* プラスミド (pBR325) の chloramphenicol acetyltransferase,¹⁾ *Kluyveromyces lactis* の β -galactosidase²⁾ があるが、いずれも酵母のプロモーターを用いていない。最近 2 つのグループから *E. coli* の β -galactosidase の N 末端 7 1/3 codon の欠落したもの (*'lacZ*, オペレーター、プロモーター領域も欠落している) の上流部分に異種ペプチドを付加しても活性があることを利用する *'lacZ* fusion method により、酵母プロモーターから *lacZ* gene が酵母菌体内で転写、翻訳することが報告された。

その 1 つ³⁾ は酵母 *URA3* gene を用いたものである。用いたプラスミドは 2 μ m DNA, *LEU2* gene, *URA3* gene および ColE1 origin 領域, *amp^r* gene を含む *E. coli*-酵母シャトルベクターに *'lacZ* gene を組み込んだ pRB 45 である。この pRB 45 で *E. coli* を形質転換したものは Lac⁻ であるが、10⁻⁷ の頻度で Lac⁺ derivative が得られ、そのプラスミドを解析した結果いろいろな deletion が認められた。このような *in vivo* deletion により *URA3-lacZ* fusion