

452

ビール酵母由来アルコールアセチルトランスフェラーゼ(AATase)遺伝子(ATF1、Lg-ATF1)の解析

○善本裕之、藤井敏雄、玉井幸夫、長澤直*、坊垣隆之*、浜地正昭*、布川彌太郎* (キリンビール基盤技術研究所、*大関総合研究所)

【目的】我々は先に清酒酵母のAATase遺伝子(ATF1)をプローブとし、ビール酵母から2種類のATF遺伝子(ATF1、Lg-ATF1¹⁾)を取得した²⁾。今回は、それらの塩基配列、様々な株における存在や多コピー導入した株のAATase活性を比較した。

【方法および結果】(1)塩基配列の決定 2種類のビール酵母由来ATF遺伝子(ATF1、Lg-ATF1)の塩基配列を決定したところ、1575 bp (525 aa)のうち、塩基レベルで78.8%、アミノ酸レベルで80.4%マッチしていた。予測されるAtf1蛋白質は61.1k dalton, pI=6.52、Lg-Atf1蛋白質は61.0k dalton, pI=7.86であり、両者共に親水性が高かった。

(2)サザンブロット解析 実験室株と種々の実用酵母から染色体DNAを取得し、制限酵素で切断後、ビール酵母由来ATF1、Lg-ATF1をプローブとしてサザンブロッティングを行なった。ATF1はすべての株に存在した。一方、Lg-ATF1はビール酵母の一部とワイン酵母の一部にのみ存在した。

(3)ビール酵母由来ATF1、Lg-ATF1をそれぞれ多コピー導入した株のAATase活性 ビール酵母由来ATF1、Lg-ATF1の多コピープラスミドでそれぞれ形質転換した株の静置培養時のAATase活性は、野生株と比較して15倍と6.5倍増大した。また、それらの株の振とう培養時のAATase活性は共に抑制を受けた。

1)ビール酵母に特異的な染色体由来の遺伝子にLg(Lager)と名づけ、AAT2をLg-ATF1に改名した。

2)藤井ら、1993年度日本農芸化学大会講演要旨集p.348

Analysis of the gene encoding Alcohol Acetyl Transferase from Brewery Lager Yeast

○Hiroyuki Yoshimoto, Toshio Fujii, Yukio Tamai, Naoshi Nagasawa*, Takayuki Bogaki*, Masaaki Hamachi* and Yataro Nunokawa* (Central laboratories for Key Technology, KIRIN BREWERY Co., Ltd., *General Research laboratory, Ozeki Corp.)

453

清酒酵母由来アルコールアセチルトランスフェラーゼ(AATase)遺伝子(ATF1)の解析 (大関 総合研究所、*キリンビール 基盤技術研究所)

○長澤直、坊垣隆之、浜地正昭、布川彌太郎、善本裕之*、藤井敏雄*、玉井幸夫*

【目的】清酒中の重要な香り成分である酢酸イソアミルは、酵母のAATaseにより生成される。この遺伝子(*)は清酒酵母協会7号から1種(ATF1)、ビール酵母から2種(ATF1, Ls-ATF1)クローニングされている¹⁾。本報では、協会7号酵母由来のATF1遺伝子について塩基配列を決定し解析を行った。さらに、AATase遺伝子の各種醸造用酵母における存在と分布について検討した。

【方法及び結果】協会7号酵母のゲノムライブラリーからクローニングされた6.6Kb断片のうち、1,575bpのORFを含む約2Kbの塩基配列を決定した。このORFは525アミノ酸をコードしており、計算される分子量は61,059であった。既に報告した精製AATaseタンパク質の10種の内部アミノ酸配列²⁾がすべて見出され、このORFはAATaseをコードしていることが示された。配列から予測されるタンパク質は親水性を示し、膜への移行シグナルや明らかに膜を貫通すると考えられる配列も含んでいなかった。その他の特徴として、Cys, Met, Trp等のアミノ酸を多く含んでいることが明らかとなった。協会7号酵母由来のATF1遺伝子とビール酵母由来のATF1遺伝子とは高い相同性を示すが、ゲノムサザン、PCR等で解析した結果、協会7号酵母由来ATF1遺伝子は他の清酒酵母及び焼酎酵母に存在し、ビール酵母由来ATF1遺伝子はワイン・ウイスキー酵母等に存在していた。

(*既に報告したAATase遺伝子¹⁾の名称AAT1, 2をそれぞれATF1, Ls-ATF1と改名)

1)藤井ら、1993年度日本農芸化学大会講演要旨集p.348

2)坊垣ら、 " p.348

Analysis of the gene encoding Alcohol Acetyltransferase from *S. cerevisiae* Kyokai No. 7

○Naoshi Nagasawa, Takayuki Bogaki, Masaaki Hamachi, Yataro Nunokawa, Hiroyuki Yoshimoto*, Toshio Fujii* and Yukio Tamai* (General Research Laboratory Ozeki Corp., *Central laboratories for Key Technology KIRIN BREWERY Co., Ltd.)