

- 209 枯草菌および納豆菌の γ -ポリグルタミン酸合成酵素遺伝子の発現制御 ○漆畑祐司、生田潤子、徳山真治、田原康孝(静岡大農・応生化)

【目的】枯草菌168株は、納豆菌に存在する γ -ポリグルタミン酸(PGA)合成酵素遺伝子(*ywsC-ywtAB*)を保持しているにもかかわらず、PGAを合成することができない。その原因のひとつとして遺伝子の発現制御の違いが考えられた。本研究は、本遺伝子の発現制御を分子レベルで解明することを目的として、両菌株本遺伝子の発現制御について検討した。

【方法および結果】枯草菌168と納豆菌NR-1のPGA合成酵素遺伝子プロモーター下流にレポーター遺伝子*lacZ*を挿入した組換え株を作製し、本遺伝子の発現量を β -gal活性で測定した。本遺伝子の発現量の違いはL-グルタミン酸の有無によって顕著に現われた。枯草菌168の β -gal活性はL-グルタミン酸を加えてもほとんど検出されなかったが、納豆菌NR-1の β -gal活性は2%L-グルタミン酸の添加によって著しく上昇した。この発現上昇は他のアミノ酸では見られず、L-グルタミン酸に特異的であった。現在、枯草菌168と納豆菌NR-1のPGA合成酵素遺伝子の発現制御の違いを利用して、本遺伝子の発現制御に関与する遺伝子のクローニングを行っている。
Transcriptional regulation of the genes coding for γ -polyglutamic acid synthetase in *Bacillus subtilis* and *B. subtilis natto*
○Yuji Urushibata, Junko Ikuta, Shinji Tokuyama, Yasutaka Tahara (Dept. Appl. Biol. Chem., Shizuoka Univ.)

【Key words】*Bacillus subtilis natto*, γ -polyglutamic acid

- 210 メチロトロフ酵母*Pichia methanolica*のアルコールオキシダーゼアイソザイムの誘導発現機構の解析
○中川智行、宮地竜郎、水村祐、側兼次、向山博幸*、由里本博也*、阪井康能*、加藤暢夫*、冨塚登(東農大・生物産業・食品科学、*京大院農・応生科)

【目的】*Pichia methanolica*はメタノール生育時に9つのアルコールオキシダーゼ(AOD)アイソザイムを生産する。これらアイソザイムは2つのMOD遺伝子にコードされていることが明らかとされているが¹⁾、それぞれの発現機構については明らかとされておらず、その発現機構の解明はアイソザイムの生理的意義を明らかにする糸口となるものと思われる。そこで、我々はまずAODアイソザイムの誘導についての検討を行った。

【方法および結果】*P. methanolica* MOD1はメタノールのみならずグリセロールやペクチンによっても発現誘導された。さらに、MOD1はホルムアルデヒドやジヒドロキシアセトンなどによっても発現誘導が見られることから、*Candida boidinii*において報告されているメタノール代謝産物による「アナボライトアクチベーション」によってその発現制御が行なわれているものと思われる。これに対して、第二のAOD遺伝子MOD2はメタノール生育細胞でのみ誘導がみられ、MOD1のような強力なアナボライトアクチベーションは見られなかった。このことは、MOD1は他のメチロトロフ酵母同様メタノール代謝の中心的な機能を担っているのに対し、MOD2はメタノールにのみ応答し、メタノール代謝を巧妙にコントロールする因子であることが考えられる。

¹⁾ Nakagawa, T., H. Mukaiyama, H. Yurimoto, Y. Sakai and N. Kato. 1999. Yeast. 15: 1223-1230

Regulation of expression of AOD isozymes on methylotrophic yeast *Pichia methanolica*

○Nakagawa, T., T. Miyaji, T. Mizumura, K. Gawa, H. Mukaiyama, H. Yurimoto, Y. Sakai, N. Kato and N. Tomizuka (Dept. of Food Sci. and Tech. Tokyo Univ. of Agri. and Div. of Appl. Life Sci. Kyoto Univ.)

【Key words】Alcohol oxidase, Isozyme, *Pichia methanolica*