

511 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の酵母への染色体内組み込みによる不飽和脂肪酸の生産

(広大院・先端・生命機能)○村島智恵子、秋庸裕、道中康也、河本正次、重田征子、土屋英子、小埜和久

【目的】ヒトが食品からの摂取に依存している高度不飽和脂肪酸は機能性食品を設計する上で重要な成分である。本研究では、醸造食品生産に用いられる酵母の染色体内に脂肪酸不飽和化酵素遺伝子を組み込むことにより、本来酵母が持たない多価不飽和脂肪酸を生産させ、その生産効率と導入遺伝子のコピー数などとの相関について解析することを目的とした。

【方法及び結果】 γ -リノレン酸生産性糸状菌 *Mucor circinelloides* HUT112 より cDNA ライブラリーを作成し、 $\Delta 12$ 不飽和化酵素遺伝子を単離した。その ORF に対応する DNA 断片を発現ベクター pYES2 へ挿入し、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 内で誘導発現させたところ、宿主由来の脂肪酸に加えてリノール酸(18:2n-6)が新たに生成していることが確認された。続いて本遺伝子を構成発現プロモーター下に置いて、 δ -配列を介しての相同組換えにより酵母ゲノム上へインテグレーションさせたところ、本遺伝子の構成的な発現とリノール酸の顕著量の生成が認められた。酵母ゲノム上でのコピー数を測定するため、CHEF サザン解析を行っている。

Production of unsaturated fatty acid by chromosomal integration of fatty acid desaturase gene in yeast.

○Chieko Murashima, Tsunehiro Aki, Yasunari Michinaka, Seiji Kawamoto, Seiko Shigeta, Eiko Tsuchiya, Kazuhisa Ono, (Dpt. Mol. Biotech., ADSM, Hiroshima Univ.)

【Key word】 $\Delta 12$ desaturase, linoleic acid, integration, *Saccharomyces cerevisiae*, *Mucor circinelloides*

512 カルシウムで活性化される *Kluyveromyces lactis* キラータンパク質は出芽酵母のアクチンとキチン局在を阻害する

(生物資源研、* 広大・先端研) ○北本宏子、宮川都吉*

【目的】酵母のキラー現象の作用機構のうち感受性株にイオンチャンネルの形成や Ca^{2+} チャンネルの阻害を引き起こすものがいくつか知られている。そこで、キラー現象のうち Ca^{2+} で影響を受けるものを検索した。このうち *Kluyveromyces lactis* キラータンパク質(KIKP)作用に着目し、各種金属の影響と、KIKPが出芽酵母の形態に及ぼす影響を調べることを目的とする。

【方法及び結果】 Ca^{2+} によって活性が増加した3種のキラー酵母のうち、KIKPがもっとも強い活性を示した。そこでKIKPを粗精製したのち、各種金属塩存在下で出芽酵母の増殖を調べた。その結果、KIKPは Ca^{2+} 濃度依存的に出芽酵母の増殖を抑制したが、EGTA 添加により活性が阻害された。また、他の金属の影響は見られなかった。KIKPを作用させると生菌数は約1/10に低下し、 Ca^{2+} 存在下では1/100に低下した。さらに、KIKP作用により、アクチンケーブルの消滅、アクチンパッチの局在欠損が起きた後細胞表層にキチンの塊が点在したが、 Ca^{2+} 存在下ではこの異常が強く早く現れた。以上の結果から、KIKPの作用が Ca^{2+} で活性化されることが明らかになった。

Activation of *Kluyveromyces lactis* killer protein (zymocin) by calcium induces actin and chitin deposition in budding yeast

○Hiroko KITAMOTO, Tokichi MIYAKAWA* (National Institute of Agrobiological Sciences, *Grad. School of Advanced Sciences of Matter, Hiroshima University)

(Key words) killer protein, *Kluyveromyces lactis*, calcium, actin, chitin