

932 モノテルペンアルコール生産性変異酵母のファルネシルニリン酸合成酵素遺伝子の新規な一アミノ酸置換変異

(白鶴酒造) ○植田真理, 渡辺 睦, 西村 顕

【目的】モノテルペンアルコールは柑橘系の好ましい香りを有しており、食品や香粧品の香料として幅広く利用されている。清酒醸造への応用を念頭に置いて、*Saccharomyces cerevisiae* からモノテルペンアルコール生産性変異株を分離し、その変異箇所について検討した。

【方法及び結果】実験室酵母 X2180-1A を EMS で変異処理し、出現したコロニーをランダムに釣菌して、YPD 液体培地で 30℃ で 2 日間振とう培養を行った。生成したモノテルペンアルコールはガスクロマトグラフで分析した。X2180-1A が全くモノテルペンアルコールを生産しなかったのに対して、70012 変異株ではリナロール、シトロネロール、及びゲラニオールの生産が認められた。70012 株と X2180-1B の交雑株ではその生産性は完全に消失した。モノテルペンアルコールの生産については、ファルネシルニリン酸合成酵素遺伝子 *ERG20* の変異 (*erg20-2*, K197E) が報告¹⁾されている。70012 株の *ERG20* を PCR 増幅して塩基配列を決定したところ、新規な一アミノ酸置換変異 (*erg20-3*, T62M) を検出した。野生型 *ERG20* の導入で 70012 株のモノテルペンアルコール生産性は抑制されたが、*erg20-3* 高発現ベクター保持した $\Delta erg20$ 株はモノテルペンアルコールを生産した。

<文献> 1) L. Blanchard, and F. Karst: *Gene*, 125, 185-189 (1993).

A novel missense mutation (T62M) of farnesyl diphosphate synthetase can confer productivity of monoterpene alcohols on yeast.

○Mari Ueda, Mutsumi Watanabe, Akira Nishimura, (Hakutsuru Sake Brewing)

【Key Words】monoterpene alcohol, farnesyl diphosphate synthetase, yeast

933

Cryptococcus 属酵母由来のグルタミナーゼ遺伝子のクローニング

(キッコーマン・研究本部) ○伊藤考太郎、海附玄龍、小山泰二

【目的】グルタミナーゼは、L-グルタミンを加水分解して、アンモニアとうまみ成分である L-グルタミン酸を生成する酵素であり、食品加工業において重要な役割を果たしている。我々は、*Cryptococcus nodaensis* に耐塩性および耐熱性に優れたグルタミナーゼを見出した。本研究は、*Cryptococcus nodaensis* よりグルタミナーゼ遺伝子を単離し、その遺伝子の解析を目的とした。

【方法および結果】*Cryptococcus nodaensis* の染色体 DNA を鋳型とし、精製したグルタミナーゼの内部部分アミノ酸配列をもとに合成したプライマーを用いて PCR を行い、グルタミナーゼ遺伝子の部分断片を取得した。次に、この部分断片の配列情報をもとにインバース PCR 法および RACE 法を用いて、グルタミナーゼのゲノム遺伝子および cDNA を取得した。その結果、本グルタミナーゼは、2052bp の塩基によりコードされ、684 残基のアミノ酸からなるタンパク質であることが明らかとなった。相同性検索の結果、既知のグルタミナーゼとの相同性はなく、新規なグルタミナーゼであった。次いで、*S. cerevisiae* を宿主として取得した遺伝子を発現させ、グルタミナーゼ活性を確認した。

Cloning of a novel glutaminase gene from *Cryptococcus nodaensis*.

○Kotaro Ito, Genryou Umitsuki, Yasuji Koyama (Research and Development Division, Kikkoman Corporation)

【Key words】glutaminase, *Cryptococcus*, cloning