

16 微生物

116 小麦粉毒耐性酵母の遺伝解析
(オリエンタル酵母工業 食品研)
中富康夫

1) 目的 小麦粉中に酵母の発酵を阻害する抗酵母蛋白 Purothionine の存在することが知られている。今回、抗酵母蛋白によって発酵が阻害されない耐性酵母をパン種から分離し、その遺伝解析を行ったので報告する。

2) 方法 供試株、HW28 (耐性株)、A5-1d (感受性株)、パン酵母、ビール酵母、酒酵母 培養条件、YPD 培地 100 ml で 24 時間振盪培養した。液発酵力、小麦粉木屑抽出液 (水:小麦粉=3:1) に グラニュー糖を 80g/600ml とするように溶解したもの: FI(10) 及び FI(10) に塩化カルシウム 0.8g を加えたもの: FI(10)+Ca を基質として用いた。

基質 15ml に 10% 酵母懸濁液 5ml を加え、ウオルフの装置を用いて 30°C で 2 時間振盪、発生する炭酸ガス量を測定した。遺伝解析、四分子分析とランダム胞子解析による。

3) 結果 FI(10) を基質としたとき、感受性株は発酵開始後 60 分ほどで発酵阻害がみられるが、耐性株では発酵の阻害がみられなかった。FI(10)+Ca を基質としたときは感受性株も Ca の保護作用によって発酵は阻害されなかった。そこで 90 分～120 分の炭酸ガス発生量を測定し、 $(FI(10)/FI(10)+Ca) \times 100$ を求めると、耐性株ではこの値がほぼ 100 であり、感受性株では 20～70 で、明確に区別された。2 倍体 (耐性株 × 感受性株) の四分子分析では 耐性:感受性 = 2:2 に分離し、2 倍体 (耐性株 × 耐性株) からのセグリガントはすべて耐性であった。従って耐性は単一の遺伝子支配であると考えられた。耐性がヘテロの 2 倍体の表現型は感受性であることから、耐性は劣性であると思われる。

Genetic analysis of yeasts resistant to a toxic substance of wheat flour
Yasuo Nakatomi (Fermentation and Food Research Laboratory,
Oriental Yeast Co., Ltd., 3-6-10 Azusawa, Itabashi-ku, Tokyo 174)

117 アルカン酵母のプロテアーゼ変異体の解析
阪大・工・醸酵 ○松岡正佳、Deepak Saigal、合葉修一

1) 目的 アルカン酵母の生産する菌体外アルカリ性プロテアーゼは PMSF 感受性セリンプロテイナーゼとして知られている。その構造遺伝子変異体を決定し、また分泌・プロセッシングについても考察した。

2) 方法 *Saccharomycopsis (Yarrowia) lipolytica* の変異体は ATCC44601 由来の lys met および his 栄養要求株から NTG 処理で単離した。プロテアーゼ欠損 (pr⁻) 表現型はスキムミルク平板上でのコロニー周囲の透明帯で判定した。二倍体および組換え体はプロトプラスト融合と単相化によって作成した。活性測定には培養液上澄またはその硫酸分画液を用いてカゼインを基質として pH 9 にて生成する酸可溶性ペプチドを Lowry 法で定量した。

3) 結果 単離した 12 株の pr⁻ 変異体のうち 4 株は温度感受性であり、これらのうち pr-105 と pr-110 のつくるプロテアーゼ活性は 50°C で野生型に比べて熱不安定であった。pr-105 と野生型のヘテロ二倍体は 30°C の制限温度ではプロテアーゼ比活性が pr⁺/pr⁺ 二倍体の 1/4 に低下し、量効果が見られるので pr-105 は構造遺伝子の変異である。lys met と his 要求性の pr⁻ 変異体の相補性試験により、pr-105 の対立遺伝子 pr-8 と pr-30 が見出され、これらはすべて pr⁺/pr⁻ 二倍体において量効果に寄与した。

電気泳動による分析では pr-8, pr-25, pr-30 変異体は分子量 3 万の不活性なプロテアーゼを分泌しており、二重免疫拡散法では pr-25 に野生型と同様な反応が見られる。特に、pr-25 変異体は菌体外リパーゼや RNAase 活性も多面的に欠損していた。

Analysis of alkane yeast mutants deficient in protease activity

○Masayoshi Matsuoka, Deepak Saigal, Shuichi Aiba (Department of Fermentation Technology, Osaka University, Yamada-oka, Suita-shi, Osaka 565)