

368

セルレニン耐性変異酵母 *S. cerevisiae* からの脂肪酸合成酵素遺伝子 (FAS2) のクローニング
(月桂冠 総合研究所)

○浪瀬 政宏、水津 哲義、市川 英治、今安 聡

1. 目的 清酒酵母協会7号のハプロイド株より、セルレニン耐性変異として分離されたC-8株は、吟醸香の主成分であるカブロン酸エチルを高生産する。この変異株は、脂肪酸組成が低級側にシフトしており、脂肪酸合成酵素に変異を有することをすでに報告した¹⁾。本研究では、カブロン酸エチル生成系及び変異脂肪酸合成酵素の遺伝子レベルでの解析を目的として、遺伝子のクローニングを試みた。

2. 方法 C-8ゲノムDNA Sau3A I 部分分解断片を、λDASH II BamH I アームに挿入し、ゲノムライブラリーを構築した。プローブDNAには、Mohamedらの報告による、酵母X2180-1BのFAS2遺伝子の塩基配列²⁾に基づき化学合成したプライマーオリゴヌクレオチドとC-8ゲノムをテンプレートとする、PCR法により得られた約0.5kbpの増幅産物を用いた。

3. 結果 脂肪酸合成酵素は、FAS1及びFAS2の2種の独立した遺伝子産物からなる。本変異は、FAS2遺伝子上の変異であることが、四分子解析により明らかになった。ライブラリーからのFAS2遺伝子のスクリーニングでは、約20000株中2株の陽性クローンが得られた。挿入DNA断片の大きさは約15kbpで、制限酵素地図作成後、酵母ベクターへのサブクローニングを行った。fas2変異酵母への形質転換で、本遺伝子がfas2変異を相補することを確認した。さらに形質転換体は、セルレニン耐性能を獲得し、カブロン酸エチル生産量の上昇が認められた。

(1)Ichikawa, E. et al., Agric. Biol. Chem. in press

(2)Mohamed, A. H. et al., J. Biol. Chem. 263, 12315(1988)

Cloning of the Fatty Acid Synthetase Gene(FAS2) from the cerulenin resistant yeast.

○Masahiro Namise, Tetsuyoshi Suizu, Eiji Ichikawa, and Satoshi Imayasu

(Gekkeikan Research Institute, Gekkeikan Sake Co., Ltd.)

369

清酒酵母へのβ-フェネチルアルコール、酢酸β-フェネチル高生産遺伝子の導入とその利用

(協和発酵・食品酒類研、*東京研) °福田和郎、渡辺誠、浅野行蔵、大内弘造*

(目的) 我々は、香味豊かな清酒の醸造を目的として、既に、清酒酵母 *S. cerevisiae* のオルトフルオロフェニルアラニン (OFP) 耐性変異株中から、バラの花に類似の香気物質β-フェネチルアルコール (β-PheEtOH)、酢酸β-フェネチル高生産株を取得した。この変異株の芳香族アミノ酸生合成酵素 DAHP シンターゼ (DS) は、チロシン (Tyr) によるフィードバック阻害が解除されていた¹⁾。また、実験室酵母 X2180-1B 由来の OFP 耐性変異株から β-PheEtOH 高生産株を分離し、変異型 DS をコードする遺伝子 (ARO4-OFP) のクローニングにより、本遺伝子が OFP 耐性と β-PheEtOH 高生産の両方の形質を現すことを報告した²⁾。今回、ARO4-OFP の清酒酵母への導入とその利用を検討したので報告する。

(方法および結果) 酵母ベクター YCp50 (URA3 CEN4) に ARO4-OFP を連結し (pKF101)、清酒酵母協会9号由来の K-9H14-U7 (MATα ura3) に形質導入したところ、ウラシル (Ura) 要求性相補株はすべて OFP 耐性を示し、Tyr によるフィードバック阻害が解除された DS 活性が発現していた。この形質転換株を用いて総米600gの清酒を製造した結果、対照に比べ約3倍のβ-PheEtOHとその酢酸エステルを含有する清酒が得られ、官能的にも豊かな香味があった。さらに、pKF101でK-9H14-U7および *S. cerevisiae* SK-16-U5 (MATα ura3) を形質転換し、Ura含有OFPプレート上に生育した株についてUra要求性を調べたところ、すべてUra要求性を相補したことより、ポジティブマーカーとしての利用が示唆された。X2180-1Bの野生型と変異型の両ARO4の塩基配列を決定したところ、構造遺伝子上の1塩基に変異が生じていた。

1) Fukuda, K. et al.: A. B. C. 54 3151 (1990), 2) H 3 年度日本醸造学会大会講演要旨集

Transformation of sake yeast *S. cerevisiae* with a gene for overproduction of β-phenethyl alcohol and β-phenethyl acetate

°Kazuro Fukuda, Makoto Watanabe, Kozo Asano, Kozo Ouchi* (Foods and Liquors Research Laboratories, *Tokyo Research Laboratories, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.)