E-E3-15

Isolation and characterization of high level of erythritol-producing strain, *Pseudozyma tsukubaensis*

Kyoung-Mi Lee[1], Ah-Reum Joo[2], Ponnandy Prabhu[2], Jung-Kul Lee*
Bio/Molecular Informatics Center[1], Department of Bioscience and Biotechnology[2], Department of Chemical Engineering*, Institute of Biomedical Science and Technology*
Konkuk University

A novel erythritol-producing yeast was isolated from fermentation sludge. Characteristics of the strain include asexual reproduction by multilateral budding, the absence of extracellular starch-like compounds, and a negative Diazonium blue B colour reaction. Phylogenetic analysis based on the 26S rDNA sequence and physiological analysis indicated that the strain belongs to the species *Pseudozyma tsukubaensis*, and has been named *P. tsukubaensis* K5E. Under aerobic conditions, it grows well in the pH range of 4.5-6.5 and produces erythritol, ethanol, and small amount of organic acids. *P. tsukubaensis* showed the highest erythritol yield ever reported by an erythritol-producing microorganism. Production of erythritol in *P. tsukubaensis* is catalyzed by erythrose reductase (ER), an enzyme that converts erythrose to erythritol using NADPH as a cofactor. NADPH-dependent ER was purified to homogeneity from the newly isolated *P. tsukubaensis*. This 71-kDa enzyme, a dimer of 35.4-kDa subunits, catalyzed both erythrose reduction and erythritol oxidation. The pH and temperature optima for erythrose reduction and erythritol oxidation were 6.0, 40^{o}C and 8.0, 45^{o}C, respectively. The affinity and specificity of the enzyme for erythrose was very high compared to other known ER, which may explain the high erythritol yield observed in this strain.
*corresponding author: Tel: 02-450-3505, e-mail: jkrhee@konkuk.ac.kr

E-E3-16

인삼모상근을 이용한 Cytochrome P450의 발현특성

심주선[1*], 김유진[1], 이정혜[1], 정대영[1], 권연하[1], 양덕춘[1]
[1]경희대학교 고려인삼 명품화사업단& 인삼 유전자원 소재은행

인삼 사포닌의 생합성 경로는 FPP에서 squalene이 합성되고 squalene은 2,3-oxidosqualene을 거쳐서 다양한 종류의 oxidosuqlene cyclase에 의해 phytosterol 및 dammarane, 그리고 olanene 계의 geinsenoside로 합성된다. 그중 dammarane계 ginsenoside중 triol과 diol 조성의 변화는 cytochrome P450 유전자에 의해 조절된다고 알려져 있다. 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 꽃봉오리에서 제작된 cDNA library로부터 cytochrome P450 cDNA로 분리된 유전자를 이용하여 유전적으로 안정하며, 호르몬이 없는 배지에서도 성장이 가능한 KGHR-8 세포주의 elicitor 처리에 의한 발현 특성을 조사하였다. 이차대사산물의 생합성을 촉진한다고 알려진 elicitor중 인삼의 세포현탁배양과 뿌리배양에서 ginsenoside의 생합성을 증진하는데 이용되어 온 Methyl jasmonate를 사용하였다.
본 연구에서는 KGHR-8 세포주를 10 mm 길이로 잘라 1/2MS 배지를 250 ml erlenmeyer flask에 100 ml 분주하여 3주간 배양한 후 methyl jasmonate를 100 μM 농도로 첨가한 후 시간별 (0, 6, 12, 24, 48 시간)로 100 rpm에서 배양한 것을 이용하고 발현은 RT-PCR을 통해 수행하였다.

본 연구는 2007년도 정부(과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구결과의 일부이며 연구의 지원에 감사드립니다(No. R01-2006-000-11178-0).
*주저자: 심주선, Tel: 031-201-2688 e-mail: dcyang@khu.ac.kr