酵母の HEMF 生産におけるアセトアルデヒドの役割

醤油の特徴香である HEMF は、古くからその存在が明らかになっているが、その詳細な主要生成経路は、未だに完全に解明されていない。今回は、酵母の遺伝子破壊株ライブラリーを活用したアプローチによる HEMF 生成の有力な代謝経路に関して解説していただいた。遺伝子破壊技術が代謝経路解析の強力なツールであることを改めて実感させる内容であり、特に味噌や醤油醸造に関わっている研究者には是非読んでいただきたい。

上原健二¹・渡部 潤¹・赤尾 健²・渡辺大輔²

茂木喜信¹・下飯 仁²

1. はじめに

醤油には、300 種以上の香気成分が含まれており、バラやリングなどの花・果実の香りや、ウイスキーやコーヒーの香りなど、実に多種多様な香り成分が調和することで食欲をそそるような醤油の香りを醸しだしている。中でも、甘いカラメル様の香りを持つ HEMF [4-Hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone]¹⁾は、醤油に多量に含まれており²⁾、醤油の特徴香の一つを形成する香気成分として知られている(第1図)。香気成分としての役割以外にも、HEMF には香りのマスキング効果や塩味緩和効果がある³⁾ほか、その強い抗酸化作用により抗ガン作用など⁴⁻⁷⁾を示すことが報告されており、機能性成分とし

ても注目されている。

醤油中の HEMF がどのように生成されるのかに関しては、佐々木らによりペントースリン酸経路中間代謝産物の糖リン酸から醤油酵母を介して生成することが提案されている(第2図)^{2,8)}。一方で、菅原らや林田らのグループは、五炭糖とアミノ酸の加熱によるメイラード反応物を含む培地中で耐塩性酵母を生育させることで、HEMF が生成されることを報告している⁹⁻¹¹⁾。さらに、大畑らはグルコースを基質としたアルコール発酵の中間体であるアセトアルデヒドが HEMF の炭素数2の前駆体であり、メイラード反応物由来の炭素数5の前駆体と酵母細胞内で酵素反応することで、HEMF が生成される経路を提唱している(第2図)¹²⁾。醤油中に蓄積する HEMF は酵母によって生成されるが、具体的には *Zygosaccharomyces rouxii*, *Candida versatilis*, *Candida ethellsii* などの耐塩性を持つ酵母、いわゆる醤油酵母によって生成される。*Z. rouxii* は主にアルコールや HEMF の生成を担っており、*C. versatilis*, *C. ethellsii* は醤油への熟成香の付与に加えて、わずかだが HEMF の生成にも関与している¹³⁻¹⁵⁾。酵母による HEMF 生成を向上さ

4-Hydroxy-2(or 5)-Ethyl-5(or 2)-Methyl-3(2H)-Furanone

第1図 HEMF の構造式

Screening of High-level 4-Hydroxy-2(or 5)-Ethyl-5(or 2)-Methyl-3(2H)-Furanone-Producing Strains from a Collection of Gene Deletion Mutants of *Saccharomyces cerevisiae*.

Kenji UEHARA¹, Jun WATANABE¹, Takeshi AKAO², Daisuke WATANABE², Yoshinobu MOGI¹, Hitoshi SHIMO² (*Manufacturing Division, Yamasa Corporation*¹; and *Fundamental Research Division, National Research Institute of Brewing*²)

第2図 酵母を介した HEMF の推定合成経路

せる方法としては、120℃で2時間加熱した糖・アミノ酸含有培地に酵母を添加する方法^{11,16)}、37℃で加温した醤油諸味に酵母を添加する方法¹⁷⁾、培地中の食塩濃度、全窒素濃度、pHを上げる方法¹⁸⁾などが報告されている。しかし、これらの方法を実際の醤油醸造に適用する場合には、醤油の品質低下を招く恐れがあることや、特別な諸味管理を必要とするなど、解決しなければならない問題が多い。したがって、上述した機能性を簡便にさらに高めるには、通常の醸造条件でも HEMF を高生産する醤油酵母の利用が効果的であると考えられる。しかし、詳細な HEMF 生成経路が不明であることもあり、未だ効率的な目的株の育種には至っていない。

そこで我々は、*Z. rouxii* と遺伝的に近縁で且つ HEMF 生成能を有する *Saccharomyces cerevisiae* をモデル酵母として用い、酵母における HEMF 生成経路の解明を試みた。その過程で、*S. cerevisiae* のアルコールデヒドロゲナーゼ (ADH) 遺伝子欠損株が HEMF を高生産することを見出し、さらに醤油酵母 *Z. rouxii* においても同様の効果を示すことを確認した。本稿では、*S. cerevisiae* 非必須遺伝子破壊株コレクションからのスクリーニングにより明らかとなった HEMF 高生産に関わる酵母遺伝子について紹介すると共に、酵母における HEMF 生産の意義について述

べる。

2. HEMF 高生産に関与する酵母遺伝子の探索

酵母の HEMF 生成に関わる遺伝子を同定するため、第3図で示す方法で *S. cerevisiae* 非必須遺伝子破壊株コレクションより HEMF を高生産する株をスクリーニングし、14 株の HEMF 高生産遺伝子破壊株を取得することに成功した。中でも、*ADHI* 遺伝子破壊株 (*adh1Δ*) の HEMF 生産性が最も高く、親株に比べ約 11 倍もの HEMF 生産能を有することが明らかになった (第4図 A)。*ADHI* 遺伝子はアルコールデヒドロゲナーゼ 1 をコードする遺伝子であり、アルコール発酵中にアセトアルデヒドからエタノールへの変換を触媒している。

これまでの研究から、生物学的もしくは無生物的に形成されたアセトアルデヒドが HEMF の炭素数 2 の前駆体であることが報告されている¹²⁾。そこで、取得された遺伝子破壊株で HEMF が高生産する要因が、このアセトアルデヒドの高蓄積にある可能性を考え、各遺伝子破壊株の培養液中のアセトアルデヒド濃度を測定した。その結果、*ccs1Δ* 株や *spt3Δ* 株でもある程度のアセトアルデヒドが蓄積されていたが、*adh1Δ* 株では野生株に比べて 6 倍以上ものアセトアルデヒドの蓄積が認められた (第4図 B)。これらの結果は、

第3図 *S. cerevisiae* 非必須遺伝子破壊株コレクションからのスクリーニング方法

a, b: 同じアルファベットで示された棒グラフ間に有意差なし(テューキー検定, $p > 0.05$)

第4図 *S. cerevisiae* 非必須遺伝子破壊株コレクションからスクリーニングされた HEMF 高生産遺伝子破壊株
(A)スクリーニングされた遺伝子破壊株の HEMF 生産性
(B)スクリーニングされた遺伝子破壊株のアセトアルデヒド蓄積量

Copyright © 2015, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

*adh1Δ*株における HEMF の高生産が、アセトアルデヒドの高蓄積に起因している可能性を示唆している。

3. HEMF 生産と *ADH1* 遺伝子、アセトアルデヒドとの関係

用いた *adh1Δ*株中の予期していない変異が HEMF 生産に影響している可能性や、*adh1Δ*株の表現型が近接遺伝子効果¹⁹⁾の影響を受けている可能性を排除するため、プラスミドを用いて *adh1Δ*株へ *ADH1* 遺伝子を再導入し、その影響を調べた。その結果、空ベクターを導入した *adh1Δ*株の HEMF 生産レベルは依然として高いままであったが、*ADH1* 遺伝子を含むプラスミドを導入した *adh1Δ*株の細胞内 ADH 活性、HEMF 生産性及びアセトアルデヒド蓄積量は空ベクターを導入した野生株と同程度となった (第 5 図)。また、*S. cerevisiae* の他の株 (X2180, きょうかい 7 号) においても、*ADH1* 遺伝子を破壊することで HEMF 生産性が向上した (第 6 図)。

これらの結果は、*ADH1* 遺伝子の破壊は *S. cerevisiae* のアセトアルデヒド代謝を攪乱し、その事が HEMF 生産性の向上に直接または間接的に寄与して

第 6 図 遺伝的背景が異なる *S. cerevisiae* の *adh1Δ* 株の HEMF 生産性

Copyright © 2015, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

第 5 図 *S. cerevisiae adh1Δ* 株の解析

(A) プラスミドを導入した株の HEMF 生産性

(B) プラスミドを導入した株の細胞内 ADH 活性

(C) プラスミドを導入した株のアセトアルデヒド蓄積量

Copyright © 2015, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

いることを示唆している。

4. アセトアルデヒドの有無による HEMF 生産への影響

アセトアルデヒドの蓄積が *S. cerevisiae* での HEMF 生産に直接関わっているのかどうかを調べるため、グルコースを含まない HEMF 生成培地にアセトアルデヒドを添加した培地を用いて野生株及び *adh1Δ* 株を培養し、それらの HEMF 生産性を確認した。その結果、アセトアルデヒドを唯一の炭素源として用いた場合、野生株と *adh1Δ* 株の HEMF 生産性は、グルコースを唯一の炭素源として用いた場合に野生株で得られる値よりもそれぞれ 8.1 倍、9.6 倍高い値を示した（第 7 図 A）。特に、最も高い HEMF 生産性を示したのは、グルコースを唯一の炭素源として含む培地で *adh1Δ* 株を培養した条件であった（第 7 図 A）。これらの結果は、*S. cerevisiae* は培地中から取り込ん

だアセトアルデヒドを HEMF に変換する能力を有していることを示唆している。興味深いことに、アセトアルデヒドを唯一の炭素源として添加した際の野生株と *adh1Δ* 株の HEMF 生産性は同程度であった（第 7 図 A）。この条件下では Adh1 はアセトアルデヒド代謝に関与していないと考えられるため、両株のアセトアルデヒド取り込み能が同じであると仮定すると、その細胞内存在量は同程度になるものと予想される。つまり、唯一の炭素源としてアセトアルデヒドを添加した際に野生株と *adh1Δ* 株の HEMF 生産性が同程度であったと言う結果は、前駆体であるアセトアルデヒドの存在量が同じである場合には HEMF 生産能力自体には両株に差は無いということを示唆しているのかもしれない。

次に、アセトアルデヒドの蓄積が抑制された場合の HEMF 生産性を確認した。酵母におけるアセトアルデヒド蓄積の抑制は、アセトアルデヒド分子捕捉能を有する還元型グルタチオン²⁰⁾を培地に添加することで行った。還元型グルタチオンを培地に添加し、酵母を培養したところ、野生株及び *adh1Δ* 株で HEMF 生産性が低下したことから（第 7 図 B）、アセトアルデヒドの蓄積が抑制されることで HEMF の生成が起これにくくなるものと考えられた。

以上の結果は、*S. cerevisiae* において蓄積されたアセトアルデヒドは、HEMF の生産に直接関与していることを示唆している。

5. *Z. rouxii* でのアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子破壊効果

S. cerevisiae 以外の酵母でも *ADH1* 遺伝子破壊による HEMF 生産性向上効果が発揮されるのかを確認するため、*Z. rouxii* の *ADH1* 遺伝子ホモログの破壊を試みた。*S. cerevisiae* の Adh1 タンパク質のアミノ酸配列をもとに、*Z. rouxii* のゲノムデータベース²¹⁾上で相同配列を検索したところ、ZYR00B05940g と ZYR00C12562g の 2 つの候補遺伝子がヒットした（*S. cerevisiae* ADH1 タンパク質とのアミノ酸配列の相同性はどちらも 82%）。前者は *S. cerevisiae* の *ADH1* 遺伝子と高い相同性を示していたことから *ZrADH1* と、後者は *ADH2* 遺伝子と高い相同性を示していたことから *ZrADH2* と命名した。*Z. rouxii* の HEMF 生成にアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子が

a, b, c : 同じアルファベットで示された棒グラフ間に有意差なし(テューキー検定, $p > 0.05$)

第 7 図 *S. cerevisiae* の HEMF 生産におけるアセトアルデヒドの影響

(A) 培地にアセトアルデヒドを添加した際の HEMF 生産性

(B) 培地にアセトアルデヒド補足能を有するグルタチオンを添加した際の HEMF 生産性

Copyright © 2015, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

関与しているのかを検証するため、これら *ADH1* 遺伝子ホモログを破壊し、その影響を調べた。その結果、*ZrADH1* 遺伝子単独破壊株の HEMF 生産性は親株に比べて 1.6 倍向上し、さらに細胞内 ADH 活性も半分程度となった (第 8 図 A, B)。一方で、*ZrADH2* 遺伝子単独破壊株の HEMF 生産性及び細胞内 ADH 活性は親株と同程度であった (第 8 図 A, B)。これらの結果は、アルコール発酵において最も重要なアルコールデヒドロゲナーゼをコードしていると思われる *ZrADH1* 遺伝子の破壊が、*Z. rouxii* の HEMF 生産性向上に効果的であることを示している。さらに、*ZrADH1* 遺伝子単独破壊株におけるアセトアルデヒド蓄積量は親株の 2 倍程度であったことから (第 8 図 C)、*Z. rouxii* においても *S. cerevisiae* と同様にアセトアルデヒドの蓄積と HEMF 生成とがリンクしていることが明らかになった。上述のとおり、*ZrADH2* 遺伝子の単独破壊では表現型に影響は無かったが、*ZrADH1* 遺伝子と *ZrADH2* 遺伝子を同時に破壊することで、HEMF 生産性とアセトアルデヒド蓄積量は親株に比べてそれぞれ 3.1 倍、4.2 倍向上した (第 8 図 A, C)。*ZrADH1* 遺伝子単独破壊株、*ZrADH1*、*ZrADH2* 遺伝子 2 重破壊株間の細胞内 ADH 活性になぜ差が見られなかったのかは不明であるが (第 8 図 B)、これらの結果は *ZrADH2* 遺伝子が *ZrADH1* 遺

伝子の欠損を相補し得ることを示している。

以上の結果を総合すると、HEMF を生産する酵母であれば主に機能しているアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子を破壊することで HEMF 生産性の向上が可能であることを示唆している。

6. 酵母の生存戦略としての HEMF 生産

浸透圧誘導型酵素であるグリセロール 3 リン酸デヒドロゲナーゼをコードしている *GPD1* 遺伝子を酵母で強制的に過剰発現させると、エタノールが生成する代わりにグリセロールが高生産され、同時に一過的なアセトアルデヒドの蓄積が起こることが報告されている²²⁾。これは、アセトアルデヒドからエタノールへ変換する際に利用されるはずの NADH がグリセロールの生合成に消費されることで起こる (つまり、アセトアルデヒドからエタノールへの変換が起こりにくくなる)。同じような状況は、浸透圧存在下でのアルコール発酵でも容易につくり出され、酵母にアセトアルデヒドを蓄積させるものと推定される。実際、グルコースを含む培地に NaCl を加えて *Z. rouxii* や *S. cerevisiae* を培養すると HEMF がよく生産されることから、浸透圧ストレスにより細胞内に蓄積したアセトアルデヒドを HEMF に変換することで、酵母はアセトアルデヒドの毒性を無効化しているのかもしれない。

a, b, c : 同じアルファベットで示された棒グラフ間に有意差なし (チューキー検定, $p > 0.05$)

第 8 図 *Z. rouxii* *Zradh1*Δ 株、*Zradh2*Δ 株、*Zradh1/2*Δ 株の解析

(A) HEMF 生産性 (B) 細胞内 ADH 活性 (C) アセトアルデヒド蓄積量

Copyright © 2015, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

第9図 アセトアルデヒドとメイラード反応物成分とが共存することによる生育への影響

Copyright © 2015, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

また、アセトアルデヒド含有 HEMF 生成培地を用いたプレートアッセイの結果、酵母の生育は遅れる傾向を示したことから（第9図）、アセトアルデヒドは HEMF 生成培地中のメイラード反応物成分と共存することでさらにその毒性を増すものと考えられた。これらの結果を総合すると、酵母は浸透圧存在下でアルコール発酵する際に蓄積してしまうアセトアルデヒドをメイラード反応物成分と共に HEMF に変換することで、それら成分が共存することにより生じる負の効果を打ち消しているものと考えられる。醤油諸味には小麦由来の還元糖と大豆由来のアミノ酸が豊富に含まれ、醤油発酵中に徐々に反応し、多くのメイラード反応物を形成する。一方で、発酵の進行と共に醤油酵母は小麦由来の還元糖からエタノールを生成すると共にアセトアルデヒドを生成するようになる。このような状況では、酵母はメイラード反応物とアセトアルデヒドの両方に曝されることになり、生育には不利な条件となる。酵母はこの状況を打開するため、メイラード反応物成分とアセトアルデヒドから HEMF を生成し、自らの生育に有利な環境を作りだしているのかもしれない。

7. まとめ

醤油醸造において、HEMF はいくつかの醤油酵母によって生成される。しかし、酵母における HEMF 生成経路及び HEMF 生成を触媒する酵素遺伝子に関しては依然として不明な部分が多く、詳細は明らかになっていない。この HEMF 生成経路及び HEMF 生成に関わる遺伝子を解明するための手がかりを得ることを目的に、*S. cerevisiae* 非必須遺伝子破壊株コレクションから HEMF 高生産酵母をスクリーニングし、HEMF 生産能が高い 14 株の遺伝子破壊株を取得した。中でも、*ADH1* 遺伝子破壊株が最も高い HEMF 生産性を示し、さらに酵母における HEMF 生成にアセトアルデヒドが直接関与していることを明らかにした。これらの結果は、既に報告されている「*adh1Δ*株はアセトアルデヒドを蓄積すること」と、「アセトアルデヒドが HEMF の前駆体である可能性が非常に高いこと」の 2 つの事実を支持している。*S. cerevisiae* のみならず、*Z. rouxii* においても *ADH* 遺伝子破壊によりアセトアルデヒドの蓄積と HEMF 生産性が向上したことから、*ADH* 遺伝子は HEMF 高生産醤油酵母の育種に利用可能なターゲット遺伝子である可能性が考えられる。今後は、HEMF 高生産醤油酵母の効率的

なスクリーニング手法を確立し、醤油醸造に応用したいと考えている。

8. おわりに

本研究により、酵母の *ADHI* 遺伝子を破壊し ADH 活性を低下させることで、HEMF 生産性の飛躍的な向上が可能であることが明らかとなった。しかし、*Adh1* はアルコール発酵を担う酵素であるため、実際の醤油醸造に *Adh1* 機能が低い醤油酵母を使用すると、アルコール発酵が抑えられてしまう可能性が考えられる。一方で、*ADHI* 遺伝子破壊株の HEMF 高生産性はアセトアルデヒドの高蓄積により付与されることが示唆されたことから、ADH 活性の高低以外の要因でアセトアルデヒドが高蓄積する条件や酵母株を見出すことが出来れば、*ADHI* 遺伝子破壊に寄らずとも HEMF の高生産は可能になるのではないかと考えられる。

これまで述べてきたように、HEMF の前駆体であるアセトアルデヒドの高蓄積は、HEMF を高生産させる上で重要であるが、さらにその生産性を高めるためには、HEMF の生合成酵素をターゲットとした酵母の育種が不可欠になると考えられる。残念ながら、本研究で実施した *S. cerevisiae* 非必須遺伝子破壊株コレクションからのスクリーニングでは HEMF 生合成に直接関与している遺伝子を同定することはできなかったが、その過程で HEMF 生産能が低い遺伝子破壊株を 87 株取得した（データ未掲載）。興味深いことに、これらの破壊株で破壊されている遺伝子の翻訳産物のほとんどがミトコンドリアに局在しており、且つ多くが呼吸欠損株であった。野生型のミトコンドリアゲノムを欠損した酵母では、retrograde signaling pathway²³⁾により核における遺伝子発現が変化し、*ADHI* 遺伝子が上方制御されることが明らかになっている²⁴⁾。*ADHI* 遺伝子の上方制御は細胞内アセトアルデヒドの低下を招くと予想されることから、ミトコンドリア局在遺伝子破壊株では前駆体量が減少し、結果 HEMF が生産されにくくなったものと考えられる。近年、イチゴから NAD (P) H を補酵素として利用する HDMF / HEMF 生合成酵素（エノンオキシドレダクターゼ FaQR）が同定された^{25,26)}。同様の機能を有するタンパク質がないか *S. cerevisiae* ゲノムデータベース上で探索したが、*S. cerevisiae* には FaQR と

高い相同性を有するホモログは存在しなかった。しかし、イチゴの細胞内で機能している FaQR のような酵素が、*S. cerevisiae* にも存在する可能性は十分に考えられる。本研究で利用した遺伝子破壊株コレクションは非必須遺伝子のもののみであり、酵母の全遺伝子を網羅しているとは言えないため、HEMF 生合成酵素を同定するには必須遺伝子の発現誘導株などを用いたスクリーニングも今後実施する必要があると考えられる。

尚、本研究は本誌に先立ち Applied and Environmental Microbiology に掲載されている²⁷⁾。本文中の図表の大部分はアメリカ微生物学会の許可を受けて文献 27 より改変・転載しており、著作権はアメリカ微生物学会が保持している。本論文を引用する際は、文献 27 を引用して頂きたい。

〈ヤマサ醤油株式会社〉

参考文献

- 1) U.A. Huber: *Perfumer & flavorist.*, **17**, 15-19 (1992)
- 2) M. Sasaki, N. Nunomura, T. Matsudo : *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 934-938 (1991)
- 3) 横塚保, 布村伸武, 佐々木正興, 浅尾保夫 : 特開昭 51-148072 (1976)
- 4) A. Nagahara, H. Benjamin, J. Storkson, J. Krewson, K. Sheng, W. Liu, M.W. Pariza : *Cancer Res.*, **52**, 1754-1756 (1992)
- 5) T. Sasaki, J. Yamakoshi, M. Saito, K. Kasai, T. Matsudo, T. Koga, K. Mori : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 1865-1869 (1998)
- 6) T. Koga, K. Moro, T. Matsudo : *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 946-951 (1998)
- 7) 田内広, 小松賢志, 海老根英雄, 津田昭三 : 中央味噌研究所研究報告, **24**, 122-124 (1997)
- 8) M. Sasaki : *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 230-235 (1996)
- 9) E. Sugawara, M. Ohata, T. Kanazawa, K. Kubota, Y. Sakurai : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 1761-1763 (2007)
- 10) E. Sugawara, Y. Sakurai : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 749-752 (1999)
- 11) 林田安生, 西村賢了, 栗山博, J. コリンスローター : 醬研, **25**, 237-242 (1999)
- 12) M. Ohata, K. Kohama, Y. Morimitsu, K. Kubo-

- ta, E. Sugawara : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 407-413 (2007)
- 13) D. Fukushima : Industrialization of indigenous fermented foods : Industrialization of fermented soy sauce production centering around Japanese shoyu, p 1-88 (1989)
- 14) 伊藤寛, 童江明 : 日本食品微生物学会雑誌, **11**, 151-157 (1994)
- 15) T. Yokotsuka, M. Sasaki : Microbiology of Fermented Foods : Fermented protein foods in the Orient: shoyu and miso in Japan, p 351-415 (1997)
- 16) 原田直美スエリ, 林田安生, 西村賢了, 栗山博, J. コリンスローター : 醬研, **26**, 83-87 (2000)
- 17) 林田安生, 江藤光兒, 田村吉史, 柿本雅史, 富永一哉, 田中常雄, 西村賢了, 栗山博, 大庭理一郎, J. コリンスローター : 醬研, **26**, 123-127 (2000)
- 18) 柳沼淳夫, 布村伸武 : 醸協, **97**, 608-614 (2002)
- 19) T. Ben-Shitrit, N. Yosef, K. Shemesh, R. Sharan, E. Ruppim, M. Kupiec : *Nat. Methods.*, **9**, 373-378 (2012)
- 20) Y. Matsufuji, K. Yamamoto, K. Yamauchi, T. Mitsunaga, T. Hayakawa, T. Nakagawa : *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **97**, 297-303 (2013)
- 21) D.J. Sherman, T. Martin, M. Nikolski, C. Cayla, J.L. Souciet, P. Durrens : *Nucleic Acids Res.*, **37**, D550-D554 (2009)
- 22) S. Michnick, J.L. Roustau, F. Remize, P. Barre, S. Dequin : *Yeast*, **13**, 783-793 (1997)
- 23) Z. Liu, R.A. Butow : *Annu. Rev. Genet.*, **40**, 159-185 (2006)
- 24) C.B. Epstein, J.A. Waddle, W. Hale 4th, V. Davé, J. Thornton, T.L. Macatee, H.R. Garner, R.A. Butow : *Mol. Biol. Cell.*, **12**, 297-308 (2001)
- 25) T. Raab, J.A. López-Ráez, D. Klein, J.L. Caballero, E. Moyano, W. Schwab, J. Muñoz-Blanco : *Plant Cell.*, **18**, 1023-1037 (2006)
- 26) A. Schiefner, Q. Sinz, I. Neumaier, W. Schwab, A. Skerra : *J. Biol. Chem.*, **288**, 16815-16826 (2013)
- 27) K. Uehara, J. Watanabe, T. Akao, D. Watanabe, Y. Mogi, H. Shimoi : *Appl. Environ. Microbiol.*, **81**, 453-460 (2015)

第110巻第11号756～766頁「かつおだしの嗜好性に寄与する香気成分」に誤りがありました。お詫びして下記のとおり訂正致します。

763頁 第8図

764頁

(誤) Yuzunone^(R) (正) YUZUNONE[®]

第110巻第11号772頁 村上先生の計報に誤りがありました。お詫びして下記のとおり訂正致します。

(誤) 昭和60年初頭 (正) 1960年