

## 清酒酵母の胞子形成に関する研究

201

(月桂冠(株)総合研究所) 水津哲義

清酒に限らず発酵飲料の醸造に重要な役割を担う酵母の優れた菌株を育種するには、酵母の持つ醸造特性に関する多くの特徴を遺伝レベルで明らかにし、それらを有効に組み合わせることが重要である。しかしながら、清酒酵母のような実用二倍体菌株は、一般的に胞子形成率および胞子の生存率が極めて低く、一倍体を解析することにより可能となる上記の育種計画の遂行は甚だ困難な状況にある。

我々は、清酒酵母のこのような胞子形成欠損の主因を代謝不均衡であるととらえ、胞子形成固有のプロセスを解析できる実験系の開発、胞子形成促進ファクターの検索、清酒酵母の表現型と胞子形成の関係について検討を行い、実用的にほぼ満足できる方法を開発できたので、以下に得られた成果を要約する。

## 栄養培地における胞子形成(新規な胞子形成系の開発)

栄養培地上で野生型二倍体酵母の胞子形成を誘導出来る物質を検索した結果、リジン、2-アミノアジピン酸、UMP などが見いだされた。リジンを添加した栄養培地では胞子形成率は30%以上に達し、従来用いられてきた胞子形成培地に含まれる酢酸カリや飢餓という栄養条件は胞子形成に必須ではないことが示唆された。またこの系では減数分裂開始遺伝子 (*IME1*) が高発現しないことや、胞子形成に伴い 14K の蛋白が増加することが明らかになり、今後胞子形成を解析する上で有効な実験系になると思われる。

## 清酒酵母の胞子形成に関与する重要なファクター

胞子形成時における培地および菌体内カチオンの挙動を調査した結果、酵母が減数分裂・胞子形成するためには、胞子形成培地中に一定濃度 (65nM) 以上のカルシウムが存在する事が必須であり、酵母は胞子形成時に培地中のカルシウムを選択的に取り込むことを示した。また、グルタチオンの生合成系が正常に機能することが必須であることを *gsh1/gsh1* 二倍体を用いて明らかにした。グルタチオンは清酒酵母の胞子形成率を有意に増加させたが、この促進効果は2~3 胞子子嚢形成の促進に止まり、4 胞子子嚢の形成には至らなかった。この促進効果は、協会清酒酵母の胞子形成欠損がいわゆる胞子形成遺伝子の欠落によるものではなく、何らかの代謝的不均衡によることを示唆する。

## 清酒酵母の胞子形成率を改善する有効な方法の開発

清酒醪の酵母純度の検定に用いられていた協会清酒酵母特有の表現型 (エチオニン耐性・S-アデノシルメチオニン高生産性・構成型酸性ホスファターゼ活性欠損・高温下でβ-アラニン非利用性) と胞子形成能の関連を調査したところ、以下の結果が得られた。

- (i) 野生型二倍体酵母より分離したエチオニン耐性変異株は胞子形成に欠陥を有し、また、エチオニン耐性以外の表現型も清酒酵母特有のタイプに変化した。
- (ii) 協会7号酵母より分離したエチオニン感受性変異株は胞子形成率が顕著に改善され、4 胞子形成率は70%以上に達し、胞子の生存率も約25%と改善された。また、同時にエチオニン感受性以外の表現型も野生型酵母のタイプに復帰した。

この結果は、清酒酵母特有の表現型を示す遺伝背景が胞子形成に関与することを示しており、代謝不均衡による胞子形成欠損とも関連すると考えられ、これらは今後解明すべき課題であるが、このようにして分離されたエチオニン感受性株は、清酒酵母の醸造特性の解析や優良酵母育種の元株として応用が期待される。

Studies on the restoration of sporulation defect of Sake yeast

Tetsuyoshi Suizu (Research Institute, Gekkeikan Co. Ltd.)

【Key words】 *Saccharomyces cerevisiae*. Sporulation. Ethionine-sensitive