

3P-043 清酒酵母におけるリボソーム生合成調節因子 *SFP1* とアルコール発酵性の関連に関する研究

○周 延, 渡辺 大輔¹, 呉 洪, 赤尾 健¹, 下飯 仁¹
(酒総研)
simoi@nrib.go.jp

清酒酵母と実験室酵母の発酵性の違いを生み出す原因を明らかにするためにエタノールストレス存在下における遺伝子発現プロファイルを比較した結果、清酒酵母において、PAC や rRPE モチーフをプロモータ領域に有するリボソーム生合成関連遺伝子群の発現レベルが高いことが分かった。またこの傾向は、清酒もろみ初期においても同様であった。したがって、この遺伝子群の発現制御に関与する主な転写因子として知られる Sfp1p が発酵中の清酒酵母において活性化されていることが示唆された。

Sfp1p の機能と発酵性との関連を明らかにするために、清酒酵母きょうかい7号 (K7) の *SFP1* 遺伝子破壊株を用いて清酒小仕込試験を行った結果、破壊株では発酵速度のピーク値が親株と比べて有意に減少し、製成酒のアルコール度数も低下した。一方、実験室酵母 X2180 の *SFP1* の過剰発現株においては、発酵速度が大きく向上し、清酒酵母に近いレベルの高い発酵性を示した。さらに、Sfp1p の細胞内局在を調べた結果、Sfp1p が核に局在する細胞の割合は清酒酵母の方が高いこともわかった。以上の結果から、Sfp1p の機能がアルコール発酵を促進すること、また、発酵過程における Sfp1p の活性化が清酒酵母の高発酵性の一因であると推測された。

Relationship between fermentation ability and *SFP1*, the transcription regulator of ribosomal biogenesis in sake yeast

○Yan Zhou, Daisuke Watanabe, Hong Wu, Takeshi Akao, Hitoshi Shimoi
(NRIB)

Key words *SFP1*, sake yeast, fermentation

3P-045 ビルビン酸低減清酒酵母のビルビン酸低減メカニズム解析

○福岡 久詩¹, 赤尾 健², 渡辺 大輔², 下飯 仁², 堀江 健太¹, 澤田 和敬³, 北垣 浩志¹
(¹佐賀大・農, ²酒総研, ³佐賀工技セ)
ktgkhrs@cc.saga-u.ac.jp

【背景および目的】低アルコール清酒製造時においては早い段階で発酵を停止させるためビルビン酸が残存し、アセトアルデヒドやジアセチルなどのオフフレーバーとなってしまう。しかし、アルコール発酵時におけるビルビン酸の低減に影響を与える遺伝的・代謝的要因に関する知見がこれまでほとんどないため、現在メカニズムに基づいたビルビン酸低減を示す酵母育種・代謝調節が難しい状態にある。この技術課題を克服するため、ミトコンドリアへのビルビン酸輸送阻害剤 Ethyl trans- α -cyanocinnamate の耐性株を分離する手法によりビルビン酸低減清酒酵母を育種した。本研究ではビルビン酸低減清酒酵母のビルビン酸低減メカニズムを解析し、他のビルビン酸低減技術、醸造酵母育種にも敷衍可能な知見とすることを目的とした。

【方法および結果】NGS を用いて明らかにしたビルビン酸低減清酒酵母のゲノム配列を、ビルビン酸が通常濃度の複数の独立した清酒酵母株のゲノム配列と比較することで低ビルビン酸性をもたらし 13 個の候補 SNP を抽出した。また低ビルビン酸株の代謝解析により、ミトコンドリアにおける代謝が上昇していることを示唆する知見を得た。本大会ではこれらの遺伝学的・代謝学的研究を組み合わせ清酒酵母において低ビルビン酸性をもたらし要因について考察したい。

- 1) Kitagaki and Kitamoto, Annual Review of Food Science and Technology, 4, 215-235 (2013)
- 2) Horie et al., Biosci. Biotech. Biochem. 74, 843-847 (2010).

Analysis of the mechanism of low-pyruvate producing characteristic of pyruvate-underproducing yeast

○Hisashi Fukuzaki¹, Takeshi Akao², Daisuke Watanabe², Hitoshi Shimoi², Kenta Horie¹, Kazutaka Sawada³, Hiroshi Kitagaki¹
(¹Fac. Agric., Saga Univ., ²NRIB, ³Saga Ind. Technol. Ctr.)

Key words sake yeast, genome, Ethyl trans- α -cyanocinnamate

3P-044 出芽酵母のアルコール発酵調節における TOR シグナリングの意義

○渡辺 大輔¹, 中沢 伸重², 水野 恵¹, 周 延¹, 赤尾 健¹, 下飯 仁¹, 前田 達哉³
(¹酒総研, ²秋田県大院・生資, ³東大・分生研)
simoi@nrib.go.jp

清酒酵母は発酵序盤において、Rim15p を介したストレス応答関連遺伝子の発現や、Sfp1p を介したリボソーム生合成関連遺伝子の発現に顕著な特徴を有し、いずれも清酒酵母の高発酵性と密接に関連している。以上の知見から、Rim15p と Sfp1p の上流制御因子であり、栄養シグナル伝達の鍵因子として知られる TORC1 複合体の活性変化が清酒酵母の高発酵性の根源的な原因ではないかと推測される。そこで本研究では、TORC1 活性がアルコール発酵に及ぼす影響を解析した。

まず、TORC1 活性を低下させる遺伝子破壊株では発酵序盤における発酵速度のピーク値が低下したのに対し、活性型変異株 (*TOR1LM*, *TOR2LM*) ではピーク値が上昇した。さらに発酵終盤では、活性型変異株において、発酵を途中で停止する新規表現型が発見された。以上の結果から、TORC1 活性はアルコール発酵に対して「発酵序盤では正に、発酵終盤では負に作用する」という多面的な意義を有することが明らかになった。また、発酵序盤の作用は Rim15p を介するのに対し、発酵終盤における Rim15p の影響は小さいことから、活性型変異株において観察された発酵停止は、TORC1 の下流で機能する未知の因子を介して引き起こされると考えられる。

Significance of TOR signaling in the regulation of alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*

○Daisuke Watanabe¹, Nobushige Nakazawa², Megumi Mizuno¹, Yan Zhou¹, Takeshi Akao¹, Hitoshi Shimoi¹, Tatsuya Maeda³
(¹NRIB, ²Grad. Sch. Bioresour. Sci., Akita Pref. Univ., ³IMCB, Univ. Tokyo)

Key words alcoholic fermentation, TOR, *Saccharomyces cerevisiae*, sake yeast

3P-046 清酒酵母・焼酎酵母・実験室酵母のミトコンドリア形態変化の相互比較

○泉 知輝¹, 徳永 直也¹, Jayakody Lahiru N.^{1,2}, 北垣 浩志^{1,2}
(¹佐賀大, ²鹿児島大学)
ktgkhrs@cc.saga-u.ac.jp

【目的・背景】これまで清酒醸造における清酒酵母ミトコンドリアの形態観察の結果に基づき、さまざまな醸造技術が開発されてきた^{1,2)}。しかし、ミトコンドリアの形態に醸造酵母間で違いがあるかについて解析した研究はない。醸造酵母間でミトコンドリア形態に違いがあれば、ミトコンドリアの形態を醸造特性と結びつけることができるようになり新たな醸造技術のシーズとなると考えられることから、清酒酵母、焼酎酵母及び実験室酵母のミトコンドリアを GFP で可視化し、条件を揃えてミトコンドリアの形態を相互に比較した。

【実験方法・結果】ミトコンドリアを可視化した焼酎酵母と清酒酵母、実験室酵母を用いて、さまざまな条件でミトコンドリアの観察を行った。その結果、清酒酵母は他の醸造酵母と比べてストレスや酸素枯渇に応じてミトコンドリアが断片化しにくく、フィラメントの状態に長く継続することが明らかになった。一方、焼酎酵母は他の醸造酵母と比べてストレスや酸素枯渇に応じてミトコンドリアが早く断片化することが明らかとなった。ミトコンドリアの形態はミトコンドリア活性の間接的な指標となることから、こうした条件において清酒酵母、実験室酵母及び焼酎酵母のミトコンドリア活性には違いがあり、これらの酵母のさまざまな醸造特性の違いの原因のひとつになっていることが示唆された。

- 1) *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105, 675-678 (2008)
- 2) *Journal of the Institute of Brewing*, 118, 22-26 (2012)

Diversity of mitochondrial morphology of brewery yeasts

○Izumi Kazuki¹, Naoya Tokunaga¹, Lahiru N. Jayakody^{1,2}, Hiroshi Kitagaki^{1,2}
(¹Saga Univ., ²Kagoshima Univ.)

Key words mitochondria, sake, shochu, yeast