The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

1P-172 「The YEASTS 5th」の key to species における清酒酵母の特性

○門倉 利守 , 小泉 麻衣子 , 中山 俊一 , 中里 厚実
（東農大・応生科・醸造）
kadokura@nodai.ac.jp

【目的】The YEASTS 5th では遺伝子の系統解析により種の分類が行われ、*Saccharomyces* 属は近縁の 8 種となり、変種が復活して *S. bayanus* には var. *bayanus* と var. *uvarum* の 2 変種が認められた。清酒酵母 *S. sake* は *S. cerevisiae* の synonym とされ、*Saccharomyces* 属の種を同定する key to species ではビタミン欠培地での増殖により、*S. bayanus* に同定される。本報告では、The YEASTS 5th の種の同定指標である key to species に従って清酒酵母 *S. sake* の生理学的特性を比較検討した。
【方法および結果】清酒酵母 *S. sake* と、清酒酵母と生理学的に類似する *S. italicus* (*S. cerevisiae* synonym)、自然界より野生清酒酵母を分離する際、頻繁に分離される *Torulaspora* 属の 3 種、および *Saccharomyces* 属の 7 種を用いて、The YEASTS 5th の *Saccharomyces* 属の 7 項目、および *Torulaspora* 属の 7 項目の key to species の生理学的試験を行った。清酒酵母は両属の key to species の試験において、供試した 15 菌株全てにおいてほぼ同じ生理学的特性を示し、*Saccharomyces* 属の key to species で同定される *S. bayanus* とは性質が異なった一群を形成した。また、清酒酵母と同種とされる *S. cerevisiae* (*italicus* 含) では、分離源がビール醸造に関係のある菌株を除いて性質が様々であり、複合群 (complex) であると考えられるが、Melezitose、Melibiose 資化性試験で清酒酵母とは区別が可能であった。さらに、清酒酵母は 37℃生育試験、Inulin、D-Mannitol、Ethanol、2-keto-D-gluconate 資化性試験、10% NaCl・5% Glucose 生育試験で供試した他の種の菌株とも区別が可能であり、改めて清酒酵母の独自性が明らかとなった。

Characteristic of sake yeast in key to species on The YEASTS 5th

○Toshimori Kadokura, Maiko Koizumi, Shunichi Nakayama, Atsumi Nakazato
(Dept. Ferment. Sci., Fac. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agric.)

Key words *Saccharomyces sensu strict*, sake yeast, taxonomy

1P-173 きょうかい 9 号から得られた少酸性清酒酵母の特徴

○小高 敦史 , 渡邊 賢明 , 中村 幸宏 , 松村 憲吾 , 堤 浩子 , 秦 洋二
（月桂冠・総研）
a_kotaka@gekkeikan.co.jp

【背景】消費者の嗜好の多様化に伴いバラエティーに富んだ清酒が市販されている。そのような清酒の醸造には，酸生成に特徴のある清酒酵母が使用されることがある。酸生成の多い酵母は各地で育種，使用されているが，酸生成の少ない酵母の育種に関する報告は少ない。そこで，酸生成の少ない清酒酵母（少酸性清酒酵母）を育種し，その特徴を解析した。
【方法と結果】有機酸にアミノ基が転移してアミノ酸が合成される経路がある。酵母がアミノ酸を高生産することによって，有機酸の生産量が変化するのではないかと考え，アミノ酸高生産株を取得することにした。清酒酵母きょうかい 9 号を親株として，各種アミノ酸アナログに対して耐性を示した株を取得し，清酒小仕込みによって酸生成を評価したところ，プロリンアナログであるアゼチジン -2- カルボン酸に対して耐性を示した株の中から高頻度で少酸性酵母を取得できた。得られた変異株のいくつかを清酒小仕込みによりさらに詳細に解析したところ，有機酸組成，アミノ酸組成に大きな変化がみられた。また，変異点の解析を行ったところ，変異の導入パターンと酸生成，アナログ耐性の強さに関連があることが示唆された。

Characteristics of the low acid-producing sake yeasts obtained from Kyokai No. 9

○Atsushi Kotaka, Yoshiaki Watanabe, Yukihiro Nakamura, Kengo Matsumura, Hiroko Tsutsumi, Yoji Hata
(Res. Inst., Gekkeikan Sake Co., Ltd.)

Key words sake yeast, organic acid, amino acid analogue

1P-174 桜の花から単離した香気性清酒酵母の醸造特性

○瀬 智之 [1], 中川 秀幸 [1], 佐藤 達彦 [2]
（[1]富山県農林水産総合技術セ・食品研 , [2]吉乃友酒造）
tomoyuki.se@pref.toyama.lg.jp

【目的】消費者ニーズの多様化や自然志向の高まりから特徴のある野生酵母に高い関心が示されている。これまで、我々は花や海洋深層水から新たな酵母を分離し実用化してきた。本研究では、桜の花から香気性に特徴を有する酵母を分離し、その醸造特性を検討した。
【方法】2013 年 4 月に、富山県中央植物園の桜 37 品種の花を分離源とし、5% エタノール、50mg/L クロラムフェニコールおよび 5g/L プロピオン酸ナトリウム入り YM 液体培地で集積培養し、アルコール発酵性酵母を分離した。安全性、同定、発酵温度 10,12,14℃で総米 2kg の小仕込試験を行った。
【結果と考察】桜 37 品種から高いアルコール発酵能を示す酵母 1 株（二上桜酵母 1-2 株）が得られた。二上桜酵母 1- 2 株のキラー性や産膜性および醸造酒の異臭は認められなかった。また、26SrDNA の D1/D2 領域のシークエンスが協会酵母 7 号と 100% 一致したので、*Saccharomyces cerevisiae*と同定した。次に、発酵温度（10,12,14℃）の違いによる有機酸および香気成分の差を調べた。二上桜 1-2 株では 14℃でリンゴ酸が多く、酢酸が少ない値となった。MA/SA も 14℃で 1.7 と他の温度の 1.4 より高い値であった。また、香気成分を測定したところ、発酵温度 10,12,14℃でカプロン酸エチルは、それぞれ 7.0,5.8,5.2 mg /L、酢酸イソアミルはそれぞれ 2.3,3.4,4.1mg /L であった。さらに、県内酒造関係者に利き酒を実施したところ、香りと酸味の調和の取れた酒質との良好な評価を得た。

Isolation of fermentative yeast with ethyl caproate productivity from cherry blossoms and characteristics for sake brewing

○Se Tomoyuki[1], Nakagawa Hideyuki[1], Satou Tatsuhiko[2]
([1]Toyama Prefectual Agric. Forestry Fisheries Res. Center, Food Res. Inst., [2]Yoshinotomo shuzou)

Key words *Saccharomyces cerevisiae*, sake yeast, ethyl caproate, sake brewing characteristics

1P-175 イソアミルアルコールを高生産するロイシン蓄積泡盛酵母の単離と特性解析

高木 博史 [1], 橋田 恵介 [1], ○渡辺 大輔 [1], 那須野 亮 [1], 大橋 正孝 [2], 伊波 朋哉 [3], 鼠尾 まい子 [3], 塚原 正俊 [3]
（[1]奈良先端大・バイオ , [2]奈良産振セ , [3]バイオジェット）
hiro@bs.naist.jp

沖縄の伝統的蒸留酒として知られる泡盛は個性的な香りと味を有しており、その香味成分の生成には発酵過程における酵母の寄与が大きいと考えられている。しかしながら、泡盛酵母の育種に関する研究はほとんど行われていない。パンの主要な香気成分としても知られるイソアミルアルコールの生成に必須のロイシン生合成経路は、α- イソプロピルリンゴ酸合成酵素（IPMS）の活性がロイシンによるフィードバック阻害を受けることで調節されている。そこで本研究では、ロイシンの構造アナログである 5,5,5- トリフルオロロイシン（TFL）に耐性を示す泡盛酵母の変異株を取得し、その特性を解析した。まず、TFL 耐性変異株の中から、親株である泡盛 101 号と比べて細胞内のロイシン濃度が高く、泡盛中のイソアミルアルコール量が増加した変異株を単離した。この変異株は、IPMS をコードする *LEU4*遺伝子上に 2 つの変異（S542F および A551V）を有しており、いずれのアミノ酸置換も、TFL 耐性、IPMS のフィードバック阻害解除、ロイシンの蓄積を引き起こすことを明らかにした。さらに両残基は、IPMS 内のロイシン結合部位の近傍に存在していると予想されたことから、アミノ酸置換に伴う立体障害がフィードバック阻害解除の原因であると結論づけた。以上の結果から、アミノ酸アナログ耐性変異株の取得が泡盛酵母の育種において有効であることが実証できた。

Isolation and characterization of awamori yeast mutants with L-leucine accumulation that overproduce isoamyl alcohol

Hiroshi Takagi[1], Keisuke Hashida[1], ○Daisuke Watanabe[1], Ryo Nasuno[1], Masataka Ohashi[2], Tomoya Iha[3], Maiko Nezuo[3], Masatoshi Tsukahara[3]
([1]Grad. Sch. Biol. Sci., NAIST, [2]Nara Pref. Inst. Ind. Dev., [3]Biojet)

Key words *Saccharomyces cerevisiae*, awamori, leucine, isoamyl alcohol

NII-Electronic Library Service