

学 位 論 文 要 旨

氏 名 澤田 和敬

題 目 新規清酒酵母育種のための代謝工学的研究
Study of metabolic engineering of useful fermentation microorganisms

清酒醸造において、酵母は、原料米のデンプンが麹菌の働きによって変換されたグルコースを用い、エタノールに変換するだけでなく、製成酒の香味に寄与する成分を産生することから、清酒メーカーの酵母の選択は商品の品質に直結するとともに、新商品開発の大きなポイントである。

そこで、本研究では、清酒の多様化や差別化を図るために、以下の 5 点について検討を行った。

(1) 清酒酵母の清酒酵母の 1 倍体取得法の高効率化

清酒酵母のランダムスポア法を用いた 1 倍体取得について、孢子形成培地や細胞壁溶解酵素の処理法、残存した栄養細胞の除去方法を組み合わせることで清酒酵母の 1 倍体取得を高効率する手法について検討した。

その結果、孢子形成法は酢酸カリウム培地を用い、協会 7 号系酵母と協会 9 号系酵母では細胞壁酵素処理を使い分け、栄養細胞を除去する方法として、界面活性剤 NP-40 を用いることで、1 倍体の取得率や実験の操作性が向上することを見出した。

(2) 醸造用酵母及び低ピルビン酸清酒酵母 K7-TCR7-13 株の 1 倍体株のメタボローム解析

醸造用酵母の代謝産物及び低ピルビン酸低生産性酵母 K7-TCR7-13 株の GC-FID 及び GC/MS を用いたメタボローム解析を行った。その結果、GC-FID を用いたメタボローム解析で、醸造用途に応じクラス分けができ、K7-TCR7-13 株の醸造用に関わらず幅広く分布していた。GC/MS を用いたメタボローム解析からそれらの 1 倍体の分類には、マンニトール、グリセロール、イノシトールが寄与していることを明らかにした。

(3) 「きょうかい酵母®低ピルビン酸低生産性酵母 7 号」及びその泡なし酵母の低ピルビン酸メカニズムの解明

ピルビン酸低生産性のメカニズムを明らかにするために NGS による染色体の解析と real time PCR によるゲノム解析を行った。その結果、ピルビン酸低生産能を有する菌株の染色体が異数倍数性を示し、それらの遺伝子発現量をリアルタイム PCR で解析したところ、その発現量は有意に増加していた。更に染色体が倍加している菌株の小仕込み試験を行ったところ、試験対照区に比べ、有意なピルビン酸の低生産が認められ、染色体の倍加がピルビン酸の低生産性に寄与していることが明らかになった。

(4) 醸造用酵母のミトコンドリア残活性の活性が、醪中の酸素濃度、不飽和脂肪酸及びエステル香の合成の相関関係

発酵醪の不飽和脂肪酸の主な供給源は清酒酵母であることが明らかにした。また、ミトコンドリア残基の電子伝達系を阻害することで、不飽和脂肪酸合成を阻害することが明らかになり、ミトコンドリア残活性の活性制御は清酒の香味を制御することにつながることを示唆された。

(5) 麹菌が分泌するグルコシルセラミド (GlcCer) による麹と酵母の共生関係についての検討

麹米から GlcCer を抽出し、pH8.0 での培養試験及び 8 vol%EtOH 培養試験を行ったところ、GlcCer 添加試験区では有意に酵母の増殖が認められた。GlcCer は酵母の細胞膜の生理学特性を変化させ、酵母細胞膜の保護と香味プロファイルの改変を付与することを見出した。