

# アルコール耐性清酒酵母の耐性機構の解明

情報技術支援部門 赤尾 健

## 1. アルコール耐性酵母とは

現代の清酒製造では、様々な種類の清酒酵母菌株が用いられていますが、それらの大半は元を辿ればきょうかい6号 (K6、以下同様)、K7、K9 (熊本酵母)、K10 (明利酵母) のいずれかより派生したものです。これらのきょうかい系酵母は、発酵力が高い一方で、経験的によく知られるようにアルコール分が高くなる醪の後半で死滅しやすい傾向にあります。死滅により酵母の細胞内容物が漏出すれば、製成酒の雑味や貯蔵劣化の原因となってしまいます。そのため、多くの製造現場では醪の品温管理を慎重に行うことなどにより酵母の死滅を抑制する努力をしています。また、それ以外の方策としては、醪末期でも死滅しにくく発酵を続ける、アルコール耐性酵母の使用が挙げられます。その代表的な菌株である K11 は、1975 年に K7 の自然突然変異体として分離され、今日まで (公財) 日本醸造協会から頒布が続けられています。一方、K6、K9、K10 の系統からはアルコール耐性株は分離されていません。

## 2. アルコール耐性清酒酵母 K11 の醸造特性

K11 はアルコールに強いいため、醪をしっかりと切らすことができます。そうした場合、製成酒は辛口でアミノ酸の少ないものとなります。当研究所でのこれまでの研究から、K11 は、アルコールや熱などのいわゆるストレスに曝された時に必要な (酵母にもともと備わっている) 自分自身を守ろうとする働き (ストレス応答機能) が強いいため、アルコールに耐性があることがわかっています。理由は省きますが、K7 と比べ少し発酵速度が遅く、リンゴ酸が高めになるのは、このことと関係があります。では、K11 がこのような高いアルコール耐性をいかにして獲得したのでしょうか。一般に変異体では、親株の全遺伝情報 (DNA) の中のいずれかに突然変異が起こったことにより、新しい性質を持つようになるのですが、K11 の場合、K7 の DNA のどの部分にどんな突然変異が生じたのかはわかっていませんでした。

## 3. アルコール耐性の原因となった遺伝情報の変異の解明

DNA の突然変異によって何か新しい性質を有する酵母が得られた場合、その原因となった突然変異を特定することは従来はとても困難でした。しかし、近年の解析技術の驚異的な進展により、親株と突然変異体の全遺伝情報 (ゲノム配列) を比較することが格段に容易になりました。そこで、K11 と K7 のゲノム配列をそれぞれ解読し、詳細に比較をしたところ、数十箇所の原因変異の候補が見つかりました。更に解析を進めたところ、その中から細胞の増殖を促すシグナル物質である cAMP という物質を合成する酵素の設計図となる *CYR1* という遺伝子の配列中のたった 1 文字が、K11 では別の文字に変異してしまい (*CYR1<sup>G2066A</sup>*)、それによってアルコール耐性を獲得していることを突き止めました。アルコールのようなストレスに応答して酵母が自分自身を守る機構は、いろいろな因子が関与した非常に複雑なプロセスですが、K11 の場合、その働きが大きく向上していた遺伝的な原因が、1 つの遺伝子のたった 1 つの突然変異であったことは大きな驚きでした。更に K11 では、この突然変異により、cAMP を作る酵素の働きが亢進しているらしいということもわかりました。ただしそのことが、いかにして酵母細胞にアルコール耐性の向上をもたらすのかという点は、非常に興味深い事柄なのですが、その仕組みについてはまだわからないことが多く、これからの課題です。

#### 4. きょうかい系清酒酵母からの新規アルコール耐性酵母の分離の可能性

酵母は動物と同様に二倍体です。つまり、両親の配偶子（＝一倍体）のそれぞれに由来する2組の（ほんの少しずつ異なる）ゲノム DNA を受け継いでいます。1つの細胞の中にある2組のゲノムでは、ほとんどの部分と同じ DNA 配列となっています（ホモ接合）。しかし、ごくわずかですが DNA 配列が異なる部分が存在します（ヘテロ接合）。アルコール耐性の原因となる変異位置（*CYR1*<sup>2066</sup>）の遺伝情報は、K7 では[A/G]の組合せでヘテロ接合でしたが、K11 では[A/A]とホモ接合でした。これは、K7 が増殖する際に、片親由来の[G]という情報を含む DNA の領域が何かの原因で失われ、別の片親由来の[A]という情報を含む領域がそれを補ったことを意味します（*CYR1*<sup>A/G2066A/A</sup>）。このような現象を「ヘテロ接合性の喪失（LOH）」と呼びます。ここで、注目すべきは、K7 のゲノムの中に既にアルコール耐性の原因変異が存在していたということです。ただ、[A/G]のヘテロ接合ではその効果は隠れており、[G]が[A]に置き換わり[A/A]の状態になって顕在化したこととなります（劣性ホモ）。

ところで、K6～K10 及びこれらの派生株は、お互いに遺伝的に極めて近縁関係にあります。1組の両親から生じた二倍体の酵母を共通祖先として、比較的最近になって別々の菌株として進化してきたのですが、その大きな原動力は LOH だったことがわかっています。K7 以外の菌株では、*CYR1*<sup>2066</sup> の DNA 配列はどうなっているのでしょうか。もしも、これらの菌株でも K7 と同様に[A/G]ならば、K11 と同じ変異をもつアルコール耐性株を分離できると期待して、K6、K9、K10 の系統やその他の古い清酒酵母の系統の菌株で DNA 配列を調べてみました。その結果は、[A/G]の組合せを持つのは K7 だけで、他は全て[G/G]の組合せでした。このことは、K7 でも元々は[G/G]だったものが、最近になって当該変異が導入され[A/G]となったもので、他の菌株から同じ変異を持つアルコール耐性株を分離できる可能性は限りなく低く、一方で K7 からは、[A/A]の変異を持つアルコール耐性株を何度でも分離できるということを示しています。更には、*CYR1*<sup>2066</sup> の DNA 配列の組合せを調べることで、K7 由来の系統を精度良く判定できるはずで

#### 5. おわりに

今後、将来的な醸造の現場への還元も見据えつつ、アルコール耐性が向上または低下した様々な変異体の解析などを通じて、酵母のアルコール耐性機構の詳細を明らかにしていきたいと考えています。

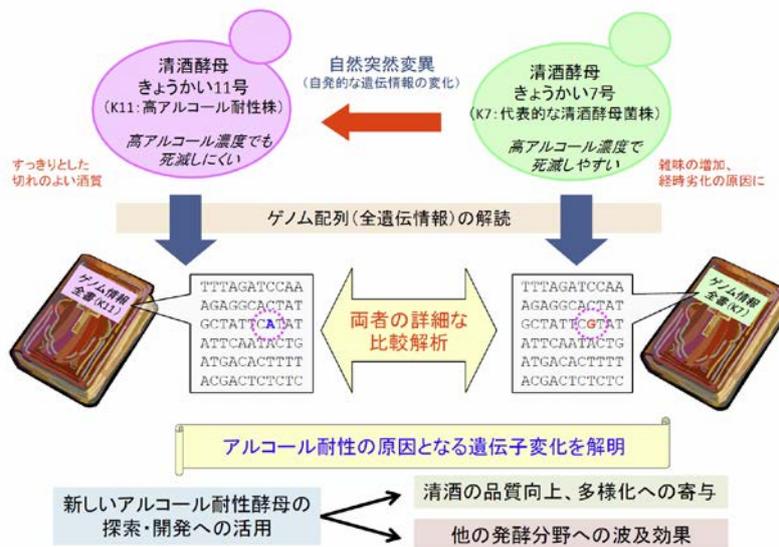


図 アルコール耐性酵母の原因遺伝子の特定