

# 酵母の育種と清酒醸造への応用

遺伝子組換え技術による育種の可能性

国税庁醸造試験所

北本 勝ひこ

清酒酵母の育種についての研究は古くから行われており、次のような多くの方法がある。

## 1) 選択法

(アルコール耐性酵母 (1976))

## 2) 突然変異法

(泡無し酵母(1969)、桃色濁り酒用酵母 (アデニン要求性変異株) (1983)、リジン要求性変異株 (1986)、カナバニン耐性酵母 (1987)、酢酸イソアミル高生産株(1988)、イソブチルアルコール、イソアミルアルコール高生産株(1989)、カプロン酸エチル高生産株(1989)、 $\beta$ -フェネチルアルコール高生産株(1989)、ウラシル要求性変異株(1989)、ウレア非生産性清酒酵母(1990))

## 3) 交配法

(吟醸酒用酵母 (協会13号) (1985)、キラー清酒酵母(1974)、プロテアーゼ欠損酵母 (pep4) (1988))

## 4) サイトダクション (Cytoduction) 法

(キラー清酒酵母 (1979))

## 5) プロトプラスト融合法

(高温発酵性醸造用酵母 (協会7号と高温発酵性酵母) (1987)、ワイン酵母と清酒酵母 (1987))

## 6) 遺伝子操作法

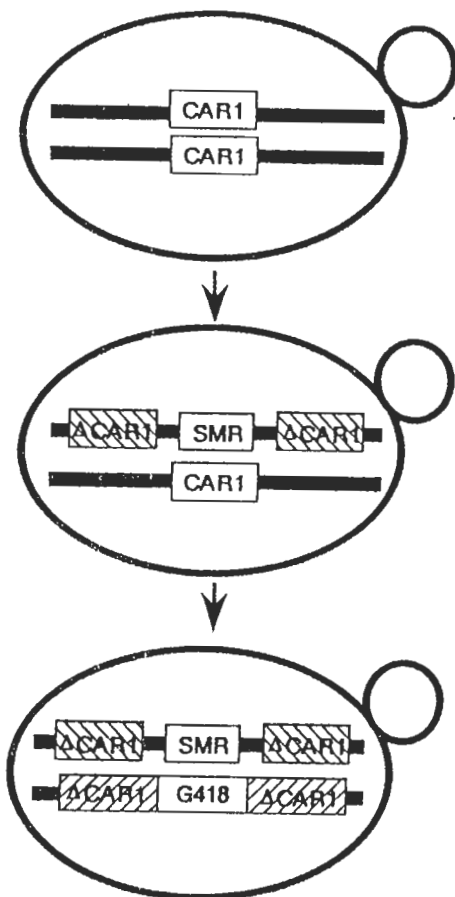
a. 酵母が本来持っていない機能を付与する育種

(麹菌 (*A. oryzae*) の $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子を導入した清酒酵母<sup>1)</sup>)

b. 酵母の持つ不要遺伝子を破壊することによる育種

(URA3, TRP1 遺伝子破壊株<sup>2)</sup>、CAR1遺伝子破壊株によるウレア非生産性清酒酵母の育種<sup>3)</sup>)

これらの方法で研究が最も進んでいて、実際の使用例の多いのは突然変異法であるが、これに次いでプロトプラスト融合法もワインでは実際に使用されている。



## CAR1 遺伝子破壊株の造成

リバータントの出現（特に2倍体である清酒酵母では1倍体酵母に比べ高くなると考えられる）がともなうが、遺伝子破壊法では遺伝子のコーディング領域の内部に欠失をいれることによりリバータントの出現はゼロとなること、などの点で有効な方法であると思われる。

### 参考文献

- 1) 北本勝ひこ、化学と生物、29、11 (1991)
- 2) K.Kitamot, K.Oda, K.Gomi and K.Takahashi: Agric. Biol. Chem., 54, 2979 (1990)
- 3) K.Kitamot, K.Oda, K.Gomi and K.Takahashi: Appl. Environ. Microbiol., 57, No1 (1991)(in press)

近年、組換えDNA技術の発展により、醸造用酵母が本来持っていない機能を外来遺伝子を導入することにより付与することも可能となっている。

ここでは我々の研究室で行っている組換えDNA技術を用いた清酒酵母の遺伝子破壊による育種について紹介したい。この方法は組換えDNA技術を使用するため今すぐには酒造場で利用されることはできないが、清酒醸造に関する酵母のある遺伝子の働きを研究したりするのに優れた手段を提供するものと考えられる。もちろん、今後使用に関するガイドラインが制定され、実際に使えるようになったときは突然変異法や細胞融合法よりも有効な育種法となるものと思われる。

清酒酵母、ワイン酵母、ビール酵母、パン酵母等の多くは、2倍体であるが、胞子形成を殆どしないため、実験室株で通常行われる遺伝学的手法の適用には制約がある。このような実用酵母の新しい育種法として、遺伝子破壊法は1) 目的とする遺伝子をターゲットとして変異を導入することができること、2) 変異剤やUV処理による突然変異では醸造特性に必要な遺伝子にも一定頻度で変異が入る危険が伴うが、この遺伝子破壊法ではこのような危険がないと考えられること、3) 染色体DNAを調製しサザンブロット解析により、遺伝子破壊が目的通りに行われたかを容易に確認すること可能であること、4) 突然変異による変異株では一定頻度でリバ