



High Expression of Unsaturated Fatty Acid Synthesis Gene *OLE1* in Sake Yeasts

清酒酵母における不飽和脂肪酸合成遺伝子 *OLE1* の高発現

(J. Biosci. Bioeng., Vol.99, No.5, 512-516, 2005)

山田 翼*・下飯 仁・伊藤 清

清酒は日本の伝統的な醸造酒であるが、その醸造法には糖化と発酵を同時に行う並行複発酵や15°C以下の低温での醸造、さらには20%近いアルコールの生成など、他の酒類醸造には見られない特徴が存在する。清酒酵母は分類学的には *Saccharomyces cerevisiae* に属している。しかし、先に述べた清酒製造条件下で酒母（スターター）、醪（本発酵）の各段階で良好に生育し良質の清酒を造る適性を持つ酵母として選抜されてきたため、実験室酵母などその他の酵母とは異なった表現型や遺伝子の発現様式を持っていると考えられる。これまでにビオチン非要求性、パントテン酸要求性、乳酸菌との非凝集性、高泡形成能などさまざまな性質が清酒酵母独特の表現型として知られてきている。近年、協会7号酵母のパントテン酸要求性は実験室酵母の *ECM31* で相補されることや、清酒酵母の高泡形成に関与する遺伝子：*AWAI* が発見されるなど清酒酵母の特性が遺伝子の構造の違いに起因することが明らかになってきた。一方、実験室酵母は真核生物として初めて1996年に全DNA配列が決定され、その結果、ゲノム全体の遺伝子発現を網羅的に検出するさまざまな方法が発展してきた。これらの手法を用いることにより清酒酵母の特性を表現型から遡って検討するのではなく、逆に表現型としては現れにくい性質を他の酵母との遺伝子発現の違いから探索することが可能になった。今回、著者らが用いたGeneFilters®は2枚のナイロン膜上に6200以上の酵母の遺伝子に対応するPCR産物がスポットされたもので、この膜上のPCR産物と酵母から得られたmRNA（正確には³³Pを取り込ませながら逆転写してラベルしたcDNA）をハイブリダイズさせ、検出することにより、酵母で発現している遺伝子を同定するものである。

著者らはこのGeneFilters®を用い清酒酵母（協会7号酵母：K-7）と実験室酵母（X2180-1A）で発現量が異なる遺伝子を検索した。YPD培地、15°CでOD₆₆₀が1.0に到達するまで培養したK-7とX2180-1Aの遺伝子発現を比較した結果、いくつかの遺伝子はX2180-1Aで発現量がとても少ないにもかかわらず、K-7では高発現してい

た。その中で、著者らは脂肪酸不飽和化酵素遺伝子 *OLE1* に着目した。*OLE1* の高発現や細胞膜のオレイン酸含量は酵母のエタノール発酵やエタノール耐性に影響を与えているという報告が見られるためである。まず、*OLE1* の高発現がK-7特有の現象ではなく他の優良清酒酵母でも見られることなのかをノーザンハイブリダイゼーションで確認したところ、K-9、K-10などK-7とは起源を異にする清酒酵母でも高発現していたので、この現象は優良清酒酵母一般に見られる現象ではないかと考えられた。

次いで、清酒酵母における *OLE1* 高発現の原因を探るためにK-7やX2180-1Aの *OLE1* プロモーター領域下流に *lacZ* 遺伝子を融合させたプラスミドを作製し、これらのプラスミドをK-7やX2180-1Aに導入してレポーターアッセイを行った。その結果、清酒酵母における *OLE1* 高発現の要因はプロモーター領域の違い（シス領域）にも起因するし、転写因子などのトランス因子の違いにも起因することがわかったが、どちらかというトランス因子の違いの影響の方が大きかった。

最後に、*OLE1* の高発現が、酵母の細胞膜脂肪酸組成に影響を与えるかどうか検討した。その結果、X2180-1Aでも *OLE1* を高発現させればK-7とほぼ同じ脂肪酸組成になることが確認された。

以上のように清酒酵母では *OLE1* が高発現していること、またそれが酵母細胞膜脂肪酸組成に影響を与えていることについては確認できたが、何のために清酒酵母では *OLE1* が高発現しているのかについては疑問が残る。なぜなら、Ole1pの酵素反応には酸素が必要であり、清酒醪中にはほとんど酸素がないからである。しかしながら、1価の不飽和脂肪酸が少ない清酒醪中での清酒酵母の発酵や生存に1価の不飽和脂肪酸が必要であるのなら、わずかな酸素を有効に利用するために *OLE1* を高発現しているのかもしれない。そうだとしたら、この現象は生物の人工的な生存環境への適応の一側面であると考えられる。

* 著者紹介 菊正宗酒造株式会社総合研究所（課長代理） E-mail: ta-yamada@kikumamune.co.jp