

## 古くて新しい交配による酵母の育種～新たな種(しゅ)から新たな酒(しゅ)へ

中山 俊一

酵母の育種の方法は、変異原を用いて塩基配列に変異を起こす変異処理、性質の異なる株同士を掛け合わせる交配、遺伝子を破壊したり種の壁を越えて新たに遺伝子を導入したりする遺伝子組換えなどがあるが、食品業界では、消費者に悪いイメージを想起させない遺伝子組換えによらない育種方法を用いることが多い。交配は古典的な手法ではあるが、*Saccharomyces*属では2011年の*Saccharomyces eubayanus*の発見によって再び盛んに行われ始めている。

*S. eubayanus*は南米パタゴニアで単離された株で、4℃といった低温環境下でもよく生育することや、マルトース代謝に関連する遺伝子を多数持つなどの特徴がある<sup>1)</sup>。比較ゲノム解析からビール醸造において低温での発酵能に優れる下面発酵酵母*S. pastorianus*が、低温発酵能が優れない上面発酵酵母*S. cerevisiae*と、この*S. eubayanus*の交配種であることが明らかにされた<sup>2)</sup>。この事実は*S. eubayanus*との交配ハイブリッド株を取得することで他の*S. cerevisiae*でも優れた低温発酵能を獲得できる可能性を示唆している。

低温環境でアルコール飲料を醸造すると、一般的にすっきりとした味わいで果実様の香りが多く含まれるようになるが、香氣成分生成に優れる既存の*S. cerevisiae*は低温発酵能が低い株も多数存在する。一方、低温での生育能や発酵能に優れた*S. eubayanus*は、エタノールに対する耐性が弱いなどのデメリットがある。そこで、これらの株を交配して接合させることで、それぞれの性質を補完した優れた株への育種が試みられた<sup>3)</sup>。

片方の親株には一倍体の*S. cerevisiae*を用い、 $\alpha$ -アミノアジピン酸耐性を指標にしたリジン要求性を付与した(野生株は、 $\alpha$ -アミノアジピン酸が毒性のある $\alpha$ -アミノアジピン酸セミアルデヒドに変換されるが、この反応が進まないリジン要求性株になると生育できるようになる)。交配は、胞子を形成させ一倍体同士を接合させ二倍体株を取得するのが一般的ではあるが、低頻度ではあるものの、二倍体株を用いても接合株を取得することが可能であり、*S. eubayanus*は二倍体の野生株が用いられた。*S. eubayanus*は低温での増殖能が優れているのに対して、37℃では生育しない性質を有する。一方、*S. cerevisiae*は37℃で旺盛に生育することから、両株の性質を発揮する接合株はリジン非要求性で37℃で生育する。実際の交配株取得には、培養したそれぞれの菌体

を滅菌水で洗浄して5日間25℃でインキュベート後、この表現型を指標に寒天培地にて接合株を単離した。ITS領域をPCRにて増幅後、制限酵素HaeIIIでの消化パターンと種特異的な遺伝子の増幅の有無でハイブリッド株であるかがさらに確かめられている。これらのハイブリッド株の倍数性は一定しておらず、2.07から2.38と、株ごとに違っていた。期待通り、ハイブリッド株では*S. eubayanus*と同等の低温増殖能が向上するとともに香氣成分の生成も良好で、*S. eubayanus*はオフフレーバーの一つであるエタンチオール<sup>4)</sup>の生成量が多いのに対してハイブリッド株では検出されず、官能評価でも高い評価を得た。このように、それぞれの良い特徴だけを發揮する株へと育種することが可能となった。

*S. eubayanus*を変異処理した後、これを親株としてハイブリッド株を取得する試みもなされている<sup>4)</sup>。*S. eubayanus*は清酒などのオフフレーバーの一つで、煙臭の原因となる4-vinyl guaiacol (4-VG) 生合成に関与する*PADI* (Phenylacrylic acid decarboxylaseをコードする遺伝子)と*FDCI* (Ferulic acid decarboxylaseをコードする遺伝子)が機能しており、4-VGを生成する。UV照射による変異処理によって4-VG生成が低下した変異株の取得を試みたところ、これらの遺伝子が脱落した一倍体の変異株が取得できた。これと*S. cerevisiae*の一倍体株を接合させたハイブリッド株では期待通り4-VGを生成しなくなった。

*S. eubayanus*を交配の親株として利用した研究を紹介したが、低温増殖能に優れた*Saccharomyces*属は他にも*S. arboricola*、*S. mikatae*、*S. uravum*などがあり、これらの株も*S. cerevisiae*と接合させることで両方の株の性質を併せ持った育種株が取得されている<sup>5)</sup>。

このように新たな種(しゅ)を用いた交配による育種は新たな酒(しゅ)への醸造とつながることが期待され、今後もますます新たな有用な微生物の探索が望まれる。

- 1) Libkind, D. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 14539 (2011).
- 2) Sampaio, J. P.: *Microbiology*, **164**, 1069 (2018).
- 3) Magalhaes, F. et al.: *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **44**, 1203 (2017).
- 4) Diederich, J. A. et al.: *Front. Microbiol.*, **9**, 1640 (2018).
- 5) Nikulin, J. et al.: *Yeast.*, **35**, 113 (2018).