

様式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成26年度）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名 若手研究(B) 4. 補助事業期間 平成25年度～平成27年度

5. 課題番号

2	5	8	5	0	0	6	5
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 清酒酵母の高アルコール発酵性メカニズムの解析とその応用

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
3 0 5 2 7 1 4 8	ワタナベ ダイスケ 渡辺 大輔	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

清酒酵母の高発酵性を引き起こすRIM15遺伝子機能欠損変異が細胞内の代謝プロファイルに及ぼす影響を明らかにするために行ったメタボローム解析の結果から、RIM15遺伝子の破壊により、グルコースを解糖/アルコール発酵によって分解する経路が促進されると共に、グルコースをトレハロースやグリコーゲン、細胞壁グルカンの形で貯蔵する同化経路が抑制されることを明らかにした。さらに、RT-PCR法により、RIM15遺伝子の欠損が、発酵初期段階において、グルコース同化経路の初発反応であるUDP-グルコースの合成に関連する遺伝子（フォスホグルコムターゼPGM2、UDP-グルコースピロフォスホリラーゼUGP1）の発現を低下させることも見出した。実際に、PGM2遺伝子の破壊やUGP1遺伝子の発現抑制によって、発酵速度を上昇させることを示し、これらの遺伝子発現の抑制が高発酵性の一因であることを証明した。これらの遺伝子発現は、Rim15pの下流で働く転写因子Msn2/4p、Hsf1pの制御下にあることから、発酵環境におけるRim15pの活性化が、Msn2/4p、Hsf1pの活性化を介して、PGM2、UGP1遺伝子の発現を誘導し、グルコース同化を促進することでアルコール発酵を抑制していることがわかった。本経路の欠損により、清酒酵母は他の出芽酵母にない高い発酵性を獲得したのだらうと考えられる。以上の結果から、本研究課題の目的である「清酒酵母の高アルコール発酵性メカニズム」の主たる部分を解明するに至った。また、出芽酵母において、グルコース同化経路の制御が、解糖/アルコール発酵の活性に影響を与えるという新規な知見を得ることができた。

10. キーワード

- | | | | |
|--------------|---------------|-------------|-----------|
| (1) 出芽酵母 | (2) 清酒酵母 | (3) アルコール発酵 | (4) RIM15 |
| (5) メタボローム解析 | (6) UDP-グルコース | (7) グルコース同化 | (8) |

11. 現在までの達成度

(区分) (1) 当初の計画以上に進展している。

(理由)

本年度に実施したメタボローム解析の結果を、前年度までに実施していたトランスクリプトーム解析の結果と組み合わせることによって、本研究課題の主目的である、「RIM15遺伝子の機能欠損」による清酒酵母の高発酵性メカニズムの全体像の解明を達成することができた。また、本メカニズムの他の実用酵母への応用についても、前年度までにバイオエタノール酵母について実施済みであったが、本年度も様々な実用酵母菌株における有効性の検証について着手済みである。さらに現在までに、「RIM15遺伝子の機能欠損」以外の高発酵性メカニズムとしてADR1遺伝子の機能欠損を発見しており(前年度)、以上を総合すると当初の計画以上に進展していると考えられる。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

今後も研究実施計画に則って、本研究課題で見出された高発酵性メカニズムが、清酒酵母以外の実用酵母菌株においても有効であるかどうかを検討し、その成果について論文化を進めていく。前年度までに、バイオエタノール酵母において応用可能であることをすでに実証済みであり、他の実用酵母や異なる発酵環境についても解析を行う。また、清酒酵母の高発酵性メカニズムのうち、主要な「RIM15遺伝子の機能欠損」以外の新規な高発酵性メカニズムについても、その存在と実体を明らかにしていく。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

(使用計画)

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(3)件 うち査読付論文 計(3)件

著者名		論文標題				
K. Uehara, J. Watanabe, D. Watanabe, T. Akao, Y. Mogi, and H. Shimoi		Screening of high-level 4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3(2H)-furanone-producing strains from a collection of gene deletion mutants of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁	
Appl. Environ. Microbiol.	有	81	2	0	1 5	453-460
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1128/AEM.02628-14.						

著者名		論文標題				
H. Takagi, K. Hashida, D. Watanabe, R. Nasuno, M. Ohashi, T. Iha, M. Nezu, and M. Tsukahara		Isolation and characterization of awamori yeast mutants with l-leucine accumulation that overproduce isoamyl alcohol				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁	
J. Biosci. Bioeng.	有	119	2	0	1 5	140-147
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1016/j.jbiosc.2014.06.020.						

著者名		論文標題				
S. Hirayama, M. Shimizu, N. Tsuchiya, S. Furukawa, D. Watanabe, H. Shimoi, H. Takagi, H. Ogihara, and Y. Morinaga		Awa1p on the cell surface of sake yeast inhibits biofilm formation and the co-aggregation between sake yeasts and <i>Lactobacillus plantarum</i> ML11-11				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁	
J. Biosci. Bioeng.	有	119	2	0	1 5	532-537
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1016/j.jbiosc.2014.10.007.						

(学会発表) 計(4)件 うち招待講演 計(2)件

発表者名		発表標題	
Daisuke Watanabe, Yan Zhou, Aiko Hirata, Yoshikazu Ohya, Takeshi Akao, Hitoshi Shimoi, and Hiroshi Takagi		Identification of yeast Greatwall kinase Rim15p as a novel negative regulator for alcoholic fermentation.	
学会等名		発表年月日	発表場所
Yeast Genetics Meeting 2014		2014年07月29日～2014年08月03日	University of Washington(アメリカ合衆国、シアトル)

発表者名		発表標題	
渡辺大輔		なぜ清酒酵母はアルコール発酵力が高いのか？	
学会等名		発表年月日	発表場所
第78回酵母研究会講演会(招待講演)		2014年08月07日	アサヒビール吹田工場(大阪府吹田市)

発表者名		発表標題	
高木健一, 渡辺大輔, 周延, 平田愛子, 大矢禎一, 高木博史, 赤尾健, 下飯仁		RIM15遺伝子機能欠損によるアルコール発酵力向上のメカニズム	
学会等名		発表年月日	発表場所
第6回日本醸造学会若手シンポジウム		2014年10月08日～2014年10月09日	北とびあ(東京都北区)

発表者名		発表標題	
Daisuke Watanabe		How has sake yeast acquired high alcohol fermentation ability?	
学会等名		発表年月日	発表場所
生物工学会関西支部 国際ワークショップ “Workshop on Asian Brewery Technology”(招待講演)		2014年10月30日	月桂冠株式会社昭和蔵ホール(京都市)

〔図書〕計(4)件

著者名	出版社		
D. Watanabe, H. Takagi, and H. Shimoï	Elsevier		
書名	発行年	総ページ数	
Mechanism of high alcoholic fermentation ability of sake yeast. In "Stress Biology of Yeasts and Fungi: Application for Industrial Brewing and Fermentation" H. Takagi, H. Kitagaki (eds.)	2 0 1 5	18	

著者名	出版社		
渡辺大輔, 高木博史, 下飯 仁	シーエムシー出版		
書名	発行年	総ページ数	
清酒酵母の高発酵性原因変異とその応用「発酵・醸造食品の最前線」(監修 北本勝ひこ)	2 0 1 5	8	

著者名	出版社		
高木博史, 渡辺大輔, 塚原正俊	シーエムシー出版		
書名	発行年	総ページ数	
有用アミノ酸を高生産する泡盛酵母の育種と泡盛の高付加価値化への応用「発酵・醸造食品の最前線」(監修 北本勝ひこ)	2 0 1 5	13	

著者名	出版社		
大矢禎一, 渡辺大輔, 岡田啓希	シーエムシー出版		
書名	発行年	総ページ数	
酵母の形態情報を発酵・醸造に生かす「発酵・醸造食品の最前線」(監修 北本勝ひこ)	2 0 1 5	11	

14.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(1)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別
オルニチン高蓄積酵母及びその取得方法並びに当該酵母を用いた酒類その他の食品の製造方法	大橋正孝、高木博史、渡辺大輔	奈良県、国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学	特許、2015-020780	2015年02月05日	国内

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.備考

--