

清酒酵母の胞子はなぜ発芽しないのか？

下飯 仁

*Saccharomyces cerevisiae*に属する出芽酵母(以下、酵母)は、人間にとって、もっともなじみの深い微生物の一つである。人間は、酵母の持つアルコール発酵力を利用して、さまざまなアルコール飲料やパンを製造してきた。産業利用される酵母は、自然界に存在している酵母の中から生産物の品質が優れた菌株が選抜されてきたと考えられるが、長年の間、人工的な培地で継代培養された結果、家畜化されており、自然界に存在する菌株とは性質が異なっている。その一つが、胞子の形成と発芽である。

酵母は、単細胞の微生物であるが、有性生殖の生活環を持っている。酵母の細胞は通常二倍体であり、栄養飢餓によって減数分裂を行い、細胞内に2種類の接合型のどちらか一方を持つ4個の一倍体配偶子をつくる。これらが胞子であり、胞子は過酷な環境にも耐えられる耐久型細胞である。栄養や温度が適した条件では発芽して、一倍体の細胞として増殖する。その後、異なる接合型の一倍体細胞同士が出会うと、接合して二倍体細胞となる。したがって、家畜や栽培植物と同様に、異なる性質の酵母菌株の交配育種が可能である。

しかし、産業用酵母の交配育種で問題となるのが、冒頭で述べた低い胞子形成率と発芽率である。清酒醸造に使用する酵母である清酒酵母を例にとると、代表的な清酒酵母であるきょうかい7号(K7)の胞子形成率はきわめて低く、また、まれに形成された胞子もほとんど発芽しない。Nakazawaらは、K7の胞子形成能が低い原因を解析した結果、K7では胞子形成条件においても、胞子形成に必要な転写因子をコードする遺伝子である*IME1*がほとんど発現していないことを見いだした¹⁾。多コピープラスミドにより*IME1*を高発現させると、胞子形成率は回復することから、低栄養などの胞子形成条件のシグナルが適切に伝達されていないことが考えられた。しかし、*IME1*の高発現では、胞子形成率は回復するものの、生じた胞子の発芽率は回復しなかった。

以上のことから、K7などの清酒酵母では、胞子形成のシグナル伝達ばかりでなく、それ以外の胞子形成メカニズムにも問題があると考えられた。Shimoiらは、K7の胞子分離株に異数体が多いことから、K7では減数分裂時の染色体組換え異常のために、胞子発芽率が低下しているのではないかと考え、以下の三つの方法で検討した。①K7一倍体100株における3番および8番染色体の2か所のヘテロサイゴシティー間の組換え、②K7一

倍体4株の次世代シーケンサーによるゲノム解析、③K6, K7, K9, K10(K7グループ)について、5番染色体左腕*CAN1*と*URA3*の間の組換え。その結果、いずれにおいても染色体組換えに由来する遺伝子型は観察されず、K7グループの清酒酵母は減数分裂時の染色体組換えに異常があることがわかった²⁾。

Shimoiらは、次に清酒酵母の減数分裂染色体組換え欠損の詳細を解析するために、組換え欠損を相補する遺伝子のクローニングを試みた³⁾。K7由来株から*CAN1*, *TRP1*, *ADE2*, *HIS3*にヘテロサイガスな変異を持ち、*ade2*と*his3*がシスの関係にある株UTCAH-3を作製して、実験室酵母のプラスミドゲノムライブラリで形質転換した。形質転換体を胞子形成させた後、カナバニンおよび5-フルオロアントラニル酸を含みヒスチジンを含まない選択培地で培養し、一倍体のみがコロニー形成をするようにした。*ADE2*と*HIS3*は同じ染色体にあるため、染色体組換えがない場合、選択培地で生育する株は*can1 trp1 ADE2 HIS3*であり、すべて白コロニーとなる。一方、染色体組換えが生じた場合は、組換え体である*can1 trp1 ade2 HIS3*も増殖するため、赤コロニーも生じることになる。スクリーニングの結果、約1万個の形質転換体の中から赤色のコロニーを1株取得した。この株のプラスミドの中には、減数分裂組換え時の染色体二重鎖切断をおこなう酵素をコードする*SPO11*が含まれていた。実験室酵母の*SPO11*でUTCAH-3を形質転換すると、減数分裂染色体組換えが回復し、胞子形成能と胞子発芽能も上昇した。しかし、K7の*SPO11*で形質転換しても、組換え、胞子形成率、胞子発芽能のいずれも回復しなかった。また、*K7SPO11*は、実験室酵母の*spo11Δ/spo11Δ*の低胞子形成能や低胞子発芽率を回復させることができなかった。以上の結果から、*SPO11*の機能不全がK7の染色体組換え欠損の原因であり、その結果、胞子形成率と胞子発芽能が低くなっていると考えられた。胞子形成時に人為的に染色体二重鎖切断を起こすことができれば、染色体組換えを促進し、清酒酵母の交配育種に有用であると考えられる。

- 1) Nakazawa, N. et al.: *J. Fermentat. Bioeng.*, **73**, 265 (1992).
- 2) Shimoi, H. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **127**, 190 (2019).
- 3) Shimoi, H. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **130**, 367 (2020).