

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	下面発酵ビール酵母の発酵性に寄与する因子の解明
Title(English)	
著者(和文)	大室繭
Author(English)	Mayu Ohmuro
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:乙第4200号, 授与年月日:2019年9月30日, 学位の種別:論文博士, 審査員:小畠 英理,山本 直之,和地 正明,平沢 敬,三重 正和
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:乙第4200号, Conferred date:2019/9/30, Degree Type:Thesis doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

(論文博士)  
(Dissertation Doctorate)

# 論 文 要 旨

(和文2000字程度)

## Dissertation Summary (approx. 2000 characters in Japanese)

報告番号 For administrative use only	乙 第	号	氏 名 Name	大室 繭
---	-----	---	-------------	------

(要 旨)

(Summary)

### 【第1章 緒言】

ビール醸造において、ビール酵母は麦汁と呼ばれる大麦やその他副原料を煮てつくられる液に含まれる糖を栄養源として、発酵によりアルコールと炭酸ガスを生成する。発酵工程はビール醸造における重要な工程の一つであり、その挙動はアルコール生産量やビールの香味に関わる成分の生成等、ビール品質に大きく影響する。

ビール酵母はその性質により、上面発酵ビール酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) と下面発酵ビール酵母 (*Saccharomyces pastorianus*) の2種類に分けられる。上面発酵ビール酵母は、比較的高温 (20℃前後)、短時間で発酵させるエールタイプのビール醸造に使用される。一方、下面発酵ビール酵母は、低温 (10℃前後) で比較的時間をかけて発酵させる。今日の日本のビールの多くは下面発酵ビール酵母によってつくられるラガータイプのビールでありその特性に大きな関心が寄せられているが、下面発酵ビール酵母は *S. cerevisiae* と *S. eubayanus* が融合した異種高次倍数体であり、その複雑な遺伝的背景から未だ分かっていないことも多くその解明が望まれている。

本研究では、下面発酵ビール酵母の発酵性に寄与する因子の解明を目的とした。まず、当社が保有する高発酵力を有する株についてゲノム解析を行い、発酵性に寄与する遺伝子の探索を行った。また近年では、高濃度醸造と呼ばれる、通常よりも糖分等のエキス含量の高い麦汁中でも発酵可能なさらに高い発酵力を持つビール酵母が望まれている。通常よりも高いエキス濃度の麦汁を発酵させ、より高いアルコール濃度のビールを製造することが出来れば、それを希釈して使用することでコスト削減や製造効率向上が見込める他、高アルコールビールといった新価値を持つビールをつくることも可能となる。高濃度醸造条件において発酵性に寄与する因子を明らかとすることで、発酵力の向上した酵母の取得を目指した。ここでは、高い発酵力を示すことで知られる清酒酵母の特徴の一つである細胞周期休止期移行機能欠損を下面発酵ビール酵母に適用し、その発酵特性を評価した。さらに、発酵中に酵母菌体内に蓄積するS-アデノシルメチオニン (SAM) に着目し、SAMを酵母菌体内に高蓄積する株を取得してその発酵特性を評価した。

### 【実験方法および結果・考察】

#### 第2章 「下面発酵ビール酵母における高発酵寄与遺伝子の解明」

当社が過去に馴化培養によって育種した高発酵性を示すHFY株について、次世代シーケンサを用い

て親株WTY株とゲノム比較解析を行い、得られた染色体情報より、発酵力の高さに寄与する遺伝子の同定を試みた。ゲノム解析よりWTY株、HFY株間で差異が見られた染色体に座乗する遺伝子の中で、グルコースを感知して下流のグルコース取り込み遺伝子の発現を上昇させる役割を持つYCK1遺伝子に着目して検証を行った。モデル下面発酵ビール酵母W34/70株を用いてYCK1遺伝子過剰発現株を作製して発酵試験によりその挙動を評価した結果、YCK1遺伝子過剰発現株は親株よりも麦汁中のエキス分の消費が速く高い発酵力を示し、当遺伝子が発酵性に寄与する遺伝子であることを明らかとした。

### 第3章「下面発酵ビール酵母における高濃度醸造下での高発酵寄与因子の解明」

高発酵力を有することで知られる清酒酵母が休止期移行欠損を示す知見をもとに、モデル下面発酵ビール酵母W34/70株を親株として、ストレスを感知して休止期移行を引き起こすRim15タンパク質をコードするRIM15遺伝子を破壊した株、およびG<sub>1</sub>/S期進行が促進されるようG<sub>1</sub>サイクリンキナーゼをコードするCLN3遺伝子のC末端配列を欠損させたCln3タンパク質分解抑制変異株を作製した。作製した株は高濃度醸造下での発酵速度が親株よりも速く高い発酵力を示し、発酵性に細胞周期が関連していることを明らかとした。

### 第4章「高発酵寄与因子をターゲットとした高発酵ビール酵母の育種技術開発」

高濃度醸造下における発酵中の酵母菌体内代謝産物の網羅解析を行い、発酵中にS-アデノシルメチオニン (SAM) を高蓄積することに着目し、酵母菌体内SAM蓄積と発酵との関連について評価を行った。麦汁中へのSAM添加もしくはSAMを酵母菌体内に高蓄積することで知られるADO1遺伝子破壊が高濃度醸造下において発酵速度を向上させることを示した。さらに、アデノシンのアナログであるコルディセピンに耐性を示す酵母がSAMを高蓄積するという知見をもとに、モデル下面発酵ビール酵母W34/70株を親株として化学突然変異法によりコルディセピン耐性株を取得した。取得した株は高濃度醸造下での発酵速度が親株よりも速く高い発酵速度を示し、また発酵終了時の酵母菌体内SAM含量はコルディセピン耐性株の方が親株よりも高かった。本手法により、遺伝子組換えによらない高発酵ビール酵母の取得が可能となった。

### 【第5章 結言】

本研究では、下面発酵ビール酵母の発酵性に寄与する因子として、YCK1遺伝子、細胞周期、SAMを見出した。また、ビール製造にも利用可能な遺伝子組換えによらない高発酵ビール酵母の新規育種技術を開発した。今後は、今回明らかとした因子を活用した製造現場での発酵制御、新規育種酵母の実用への展開を狙う。

備考：論文要旨は、和文2000字と英文300語を1部ずつ提出するか、もしくは英文800語を1部提出してください。

Note: Dissertation summaries must be written in either of the following formats: (A) both in Japanese (approx. 2000 characters) and in English (approx. 300 words), or (B) in English (approx. 800 words).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Important: Dissertation summaries will be published online on the Tokyo Tech Research Repository (T2R2). Do not include information treated as confidential under certain circumstances.

(論文博士)  
(Dissertation Doctorate)

## 論 文 要 旨 ( 英 文 ) (300語程度)

Dissertation Summary (approx. 300 words in English)

報告番号 For administrative use only	乙 第 号	氏 名 Name	大室 繭
<p>( 要 旨 ) (Summary)</p> <p><b>Lager type beer, fermented with a bottom-fermenting brewer's yeast <i>Saccharomyces pastorianus</i>, is widely consumed throughout the world, and thus, the properties of the strain has attracted substantial attention. Notably, the fermentation performance is responsible for ethanol production rate, foaming and the production of many other components that determine the final taste and aroma of beer, as well as the rates of sugar uptake. The residual sugar content affects the beer quality regarding aftertaste, especially the crispness (or sharpness) of beer, which is an important property in the Japanese beer market. Hence, it is essential to select a yeast strain with a high fermentation performance. Additionally, high-gravity brewing is a promising approach for reducing costs, energy, and production periods, although high osmotic pressure in the initial stage and high ethanol concentrations in the latter stage may inhibit or delay alcoholic fermentation. Thus, identification of the factors that govern the fermentation performance of bottom-fermenting brewer's yeast in high-gravity wort is desirable for breeding or selection of yeast strains. The aim of the present study was to clarify the factors that contribute to the fermentation performance of bottom-fermenting brewer's yeast.</b></p> <p><b>In this study, we found that <i>YCK1</i> gene, cell cycle and S-adenosylmethionine contribute to the improvement of fermentation performance of bottom-fermenting brewer's yeast. Furthermore, based on the obtained knowledge, we found a potentially novel method for breeding bottom-fermenting brewer's yeast strains that are better suited to growth in high-gravity brewing without using genetic recombination technology. Our study provides information on the properties of bottom-fermenting brewer's yeast with complex genetic background and characteristics of fermentation, and contributes to the development of new technology of controlling fermentation process and new way of breeding brewer's yeast strains.</b></p>			

備考：論文要旨は、和文2000字と英文300語を1部ずつ提出するか、もしくは英文800語を1部提出してください。

Note: Dissertation summaries must be written in either of the following formats: (A) both in Japanese (approx. 2000 characters) and in English (approx. 300 words), or (B) in English (approx. 800 words).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Important: Dissertation summaries will be published online on the Tokyo Tech Research Repository (T2R2). Do not include information treated as confidential under certain circumstances.