

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 中尾嘉宏

世界で最も飲まれているアルコール飲料であるラガービールの醸造に使用されるラガービール酵母(*Saccharomyces pastorianus*)は、最も重要な産業酵母の1つである。この酵母は、ラガービール醸造にとって好ましい生物学的特徴を有しているが、ゲノムが明らかになっていないことが主因として、分子生物学的にほとんど解明されていなかった。

本論文は、ラガービール酵母のゲノムを世界で初めて解読し、その系統分類学的解析、および新規開発したDNAマイクロアレイを用いてラガービール酵母の重要な特性である高亜硫酸生成を分子生物学的に解明した結果をまとめたものである。

第1章では、ラガービール実用株 *S. pastorianus* Weihenstephan 34/70 (W34/70) のゲノムを解読し、染色体地図と比較検証することによってゲノムサイズ 26.1Mb のうち約 96% を解読した結果を述べている。染色体は 36 本から成り、ほぼ全ての *S. cerevisiae* (Sc) と *Saccharomyces bayanus* (Sb) のゲノムを有していたため、2種の交雑体であることが証明された。また、交雑後の乗り換えによって、8つの Sc-Sb キメラ染色体が存在し、Sb および Sc 型染色体でそれぞれ 1 箇所および 5 箇所で大規模領域欠失が生じていた。更に Sb 型 XII 番染色体上のリボソームDNA領域の大規模減少、61 個の ORF が不完全化していたことは、異質倍数体である W34/70 株がゲノム倍加後の倍数性減少プロセスに従っていることを示している。一方、ミトコンドリアゲノムは Sb 由来でありゲノムシャッフリングが生じていないことも明らかとなった。また、染色体乗り換えによって、ラガービール酵母の特性である高亜硫酸生成に関する遺伝子や、低温でも優れた糖資化を示すマルトース・マルトトリオース取り込み遺伝子のコピー数が倍加していることが明らかになった。さらに、これまで *Saccharomyces* ホモログとして同定されていないラガービール酵母特異的遺伝子としてモノカルボキシレートトランスポーターをコードする遺伝子を同定した。

第2章では、Sb 型ゲノムの由来を明らかにすることを最終目的とし、まず現在単離分類されている *S. bayanus* と *S. pastorianus* の遺伝学的多様性を評価・系統分類を PCR/RFLP 法を用いて実施したところ、*S. bayanus* 種は二つの純系と一つの交雑株、*S. bayanus* (Sb) 純系、*S. uvarum* (Su) 純系、Su と Sb ゲノムの交雑系に分けられることを述べている。また、*S. pastorianus* には 2 つの交雑系統、Su 配列を含むものと含まないもの、が存在することが明らかとなった。さらに、ラガービール酵母の Sb サブゲノムの親株として、ビール醸造環境下からの単離された *S. bayanus* NBRC1948 株を見出した。

第3章では、ラガービール醸造にとって重要な特性である高亜硫酸生成能および、酸素による亜硫酸生成減少の原因を明らかにするために、DNA マイクロアレイによる発現解析

を実施した結果を述べている。この研究の結果、高亜硫酸生成能は亜硫酸生成経路上のラガービール酵母しか有しない *Sb* 遺伝子群高発現が寄与していること、また酸素による亜硫酸量低下は、亜硫酸排出トランスポーター *Sb SSUI* の発現量低下に起因することを明らかにした。さらに、転写因子結合サイトを解析することによって、通気による *Sb SSUI* の発現量制御機構は、通気による細胞壁タンパク質の発現制御と同じであることが示唆された。

本研究によって得られたゲノム情報、マイクロアレイによって今までほとんど black-box として扱っていたラガービール酵母を網羅的に「可視化」できるため、醸造特性の解明、育種、株間の差異解明、醸造中の酵母代謝解明において飛躍的な効率化が可能となり、ひいては、より品質の優れたビールの製造開発につながることを期待される。また、異質倍数体のゲノム解読も世界初であるため、ゲノム倍化および複合的なゲノム進化や構成を理解するための情報を提供するもので、学術的・応用的に貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。