

第5期 第7回創発セミナー

第7回酵母コンソーシアム

「様々な環境要因が生み出す酵母の多様性と進化」報告

千葉大学大学院理学研究院 教授

松浦 彰

大隅基礎科学創成財団は、2022年5月26日午後4時から、「様々な環境要因が生み出す酵母の多様性と進化」という統一テーマのもと、オンライン方式で創発セミナーを開催しました。

冒頭、大隅良典理事長から「世代交代の時期を迎えている我が国の酵母研究において、本財団の酵母コンソーシアムがその伝統を伝え、研究全体を俯瞰し議論する場として成長していくことを期待しています」と挨拶があり、続いて本セミナーの世話人である九州大学大学院農学研究院教授 竹川薫氏から、実験室酵母と自然界の酵母との性質の違いが最近注目されていること、そのことを踏まえて本セミナーが企画されたこと、が説明されました。93人の登録参加者との間で2時間余りにわたって講演と討論がおこなわれました。以下にその要旨を報告します。

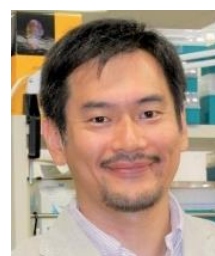
講演1

酵母に必要な要素を酵母に語らせたことで分かった自然界の酵母の生

岡山大学学術研究院環境生命科学学域 准教授、大隅基礎科学創成財団フェロー

守屋 央朗

酵母は単細胞性の真菌類の総称である。多様な酵母のゲノム解析が進んだ結果、研究室酵母、産業酵母が自然界の酵母が本来持っていた特徴を失った、家畜化された状態にあることが示されている。実験室酵母でよく知られた、染色体の異数性が細胞の増殖に悪影響を及ぼすという現象は、自然界から単離された酵母では観察されず、この違いは実験室酵母がもつ単一変異が原因であると報告されている。また清酒酵母では、異数性がむしろ有用形質と結びついている例もある。このように、自然界の酵母に比べ、実験室酵母は飼育慣らされて脆弱になっているという認識が広まっている。



講演者の守屋氏は、gTOW6000 プロジェクトにおいて、実験室酵母 *S. cerevisiae* の S288C 系統がもつ約 6,000 遺伝子をひとつずつ多コピープラスミドにクローン化し、それぞれの遺伝子を機能増強した際の表現型を網羅的に解析する実験手法を確立している。その系を利用し、様々な培養条件で過剰生産が有利に働く遺伝子を同定する新たな技術、ADOPT を開発した。ADOPT では、6,000 種のプラスミドそれぞれを保持する細胞を同じ割合で含む集団から出発し、特定の条件での培養と継代を繰り返すことにより、その条件で増殖が有利になった細胞を濃縮する。次世代シーケンスを用いて集団中の各遺伝子の存在比の変化を解析することにより、その形質を細胞に賦与する遺伝子を探索することができる。例えば、ワイン醸造で使われるブドウジュースを用いて 10 日間の ADOPT 実験を行うと、次第に集団の増殖速度が上昇し、その変化に伴ってブドウジュースに酸化防止剤として添加された亜硫酸に対する耐性を賦与する遺伝子の過剰発現株の濃縮が起きていた。濃縮された遺伝子の 1 つである SSU1 は、ワイン酵母の家畜化（馴養）の過程で発現増強する変異が生じていることが知られており、この結果は、ADOPT が酵母が必要としている要素を酵母に語らせることができる実験系であることを示している。実験室で用いられている YPD 培地で ADOPT を行うとブドウジュースの時よりも遺伝子の偏りが大きくなっ

ていた。このことは YPD 培地には酵母にとって不足している要素があり最適ではない環境であることを意味する。

さらに守屋氏は、ADOPT を使って高温、高塩 (NaCl)、高糖 (グルコース) 条件での酵母の増殖を良くする遺伝子を探索した。高塩に適応的となるものとして細胞質への Ca^{2+} 動員に関わる遺伝子が単離され、このことは高塩への耐性のために酵母が Ca^{2+} を欲していることを示している。実際、培地に Ca^{2+} を加えると塩耐性が増すことから、通常の培地条件では高塩に対処するために必要な Ca^{2+} が不足していることを示された。*S. cerevisiae* の塩耐性は株間で大きく異なるが、高感受性を示す欧州実験室株 (CEN.PK 株) は Ca^{2+} を添加しても十分な塩耐性を獲得できない。ADOPT を行うと、欧州実験室株では高塩に適応的な遺伝子として K^{+} ポンプの遺伝子が単離され、実際この株では Ca^{2+} 、 K^{+} の両者を培地へ添加することにより塩耐性が回復する。このように、ADOPT で取得される遺伝子から実験室環境で欠落している因子が明らかになってきた。実験室条件での塩感受性は、これらのイオンが同時に存在する自然界とは異なる環境での生育によって生まれた表現型と言えるだろう。

現在用いている ADOPT 系の遺伝子のソースは S288C 系の BY4741 株であり、これで探索できる空間は実験室ゲノムが保有する遺伝子の範囲に限られている。守屋氏は講演の最後に、多様な生物種を含む酵母の分類群全体のゲノム (汎ゲノム) をソースとして ADOPT 実験系を動かし、自然界の酵母がもつ潜在能力を発掘するという次の計画を語った。

講演 2

DNA の端が創出する生物多様性

東京大学大学院総合文化研究科 教授、大隅基礎科学創成財団フェロー
加納 純子

DNA に様々なタンパク質や RNA が結合した構造体である染色体は、部位ごとに特徴的な構造を形成している。そのうち、染色体の再末端にあるテロメアは、染色体の維持や次世代への継承に関わる機能ドメインである。サブテロメアはテロメアに隣接する領域であるが、不規則な重複配列が存在するため多くの生物種でまだその配列が完全には解明されていない。分裂酵母 *S. pombe* は、染色体の数が 3 本と他の生物種に比べて少なく、またサブテロメアに必須遺伝子が存在しないため、サブテロメアを研究する上で有利な材料である。*S. pombe* の各サブテロメアおよそ 100 kb の配列のうち、染色体末端に近い側の 50 kb である共通配列 (SH) 領域には染色体間で共通の配列があり、内部側の 50 kb のユニーク配列 (SU) 領域には栄養、環境応答、膜輸送に関する遺伝子などが存在している。



加納氏は、*S. pombe* の標準野生型株である 972 株からゲノムにサブテロメアを 1 箇所のみもつ株を体系的に作製し、この生物種のサブテロメア DNA 配列を完全に決定した。以前から SH 領域の一部である SH-P 配列 (5 kb) が多数の共通セグメントから構成されていることが示されていたが、加納氏の解析により、SH-P 配列はサブテロメア間、異なる研究室で維持されていた 972 株間で違いが多数検出され、この領域は細胞の培養過程で頻繁に再編成が起きていることが示された。一方、隣接する SH-D 配列は SH-P 配列に比べて細胞培養での変化は少なかった。さらに、進化的に離れた *S. pombe* 野生型株 (JB 株) との比較では、SH-P 領域、SH-D 配列ともに株間で変化に富み、972 株の SU 領域に存在する遺伝子が JB 株で消失している場合があるこ

とが見出された。この領域の遺伝子のいくつかは環境応答性／抵抗性に関わるため、配列の違いは株間での表現型の違いを生み出す原因となっていることが予想される。また、サブテロメアは塩基置換変異頻度が高く、変異のホットスポットであることも示された。これらの結果は、サブテロメアが特に構造変化を生じやすい領域であることを示している。加納氏は、自然界で生じたサブテロメアの多様化過程を実験室で再現すべく、種々のストレス条件下での長期培養実験を実施中であり、これまでに高温や、DNA 複製阻害、酸化ストレスなどのストレス条件で、SH-P 配列が構造変化した例を観察している。

このように、サブテロメアはゲノムの構造的・配列的变化のホットスポットであるが、これは SH 領域がサブテロメア間で重複しているため 1 箇所に変異や再編成がおきても直ちに致死とならないことが要因であろう。ヒトのサブテロメアは、近年進化学的、医学的な観点から関心が高まりつつあるが、ヒト科生物でもサブテロメア共通配列のバリエーションがあり、配列の不安定性が知られている。加納氏は、サブテロメアの変化しやすい性質は生物の進化／多様化のための戦略の 1 つと考えてよいのではないかと語った。

講演 3

日本の風土を生かしたワイン造り

中央葡萄酒株式会社 取締役栽培醸造責任者

三澤 彩奈

三澤氏は、1923 年創業の中央葡萄酒株式会社（山梨県勝沼町）で栽培醸造責任者をされている。甲州ブドウは、南コーカサス発祥のブドウ品種を祖先種とし、自然交雑後に日本に伝播した白ワイン醸造用の品種である。三澤氏からは、甲州ブドウの栽培法の工夫と土着微生物の利用による、ティピシティ（産地特性）を示すワイン造りを目指した取り組みが紹介された。



三澤氏は、白ワイン醸造の魔術師と呼ばれていたフランス ボルドー大学 デュブルデュ教授に師事し、同教授が甲州で行ったドライアイスを用いた還元的な醸造法に出会ったことをきっかけに、果汁を守りながら熟成させる本格的なワイン作りを意識するようになった。南アルプスの麓、北杜市明野町にある三澤農場は、日照時間が長く、寒暖差に恵まれた立地にある。三澤氏はこの地でのブドウ栽培において垣根栽培、高畝栽培という工夫をし、その結果、糖度 20 度を超える凝縮したブドウを収穫するに至った。このブドウを使ったワインは、2015 年に国際ワインコンクールの金賞を受賞している。このワインは、補糖補酸、シュールリー（発酵後の漉引きを行わない醸造法）、低温発酵など、醸造における技巧に頼らずに造られていることが特徴である。また、ブドウ栽培中に小粒で糖度の高い房が出現した際には、その枝を苗木にして増やすことにより、マサルセレクション（畑の遺伝的多様性を確保する選抜法）を実施している。

三澤農場で収穫されるブドウは、有機酸（リンゴ酸）の含有量が高いことが特徴であり、このことを利用したマロラティック発酵（乳酸菌発酵）を試みている。この発酵は、ブドウやワインに住み着いている乳酸菌により行われ、ワインの安定化、品質向上や香りの変化が期待できる。2017 年より始めたこの試みでは、年々リンゴ酸から乳酸への変換効率が上昇している。一方、畑の土着酵母で造った酒母用もろみを用いたワイン醸造を 2020 年より始めている。また、酵母の瓶内二次発酵によるスパークリングワイン造りを試行錯誤してきたが、そのワインは 2019 年に Bloomberg から Top10 ワインの評価を受けるに至っている。

本セミナー終了後、守屋先生、加納先生、三澤先生には参加者とのフリーディスカッションに参加していただきました。アカデミア側の参加者からは、土地の自然と微生物の力を利用したワイン造りを進めている三澤氏の取り組みが関心を集め、年ごとの天候の違いによる醸造への影響とその対処法、醸造過程における微生物叢解析の重要性など、多数の質問とコメントがありました。大隅基礎科学創成財団は、アカデミアと企業との間の新たな連携の構築を目指す活動の一環として本創発セミナーシリーズを企画してきましたが、酵母の遺伝的多様性を把握し、その機構の解明をめざす最新研究と、自然界の微生物を利用した醸造との出会いが、次の創発へと繋がる可能性を実感できた、大変有意義なセミナーとなりました。