

## 論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨の公表

学位規則第 8 条に基づき、論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

○氏名	高橋 俊成 (たかはし としなり)
○学位の種類	博士 (理学)
○授与番号	乙 第 553 号
○授与年月日	2017 年 3 月 3 日
○学位授与の要件	本学学位規程第 18 条第 2 項 学位規則第 4 条第 2 項
○学位論文の題名	清酒酒質の多様化に資する醸造用酵母変異株の育種と その特性解析
○審査委員	(主査) 若山 守 (立命館大学生命科学部教授) 三原 久明 (立命館大学生命科学部教授) 笠原 賢洋 (立命館大学生命科学部教授)

### <論文の内容の要旨>

本論文は清酒の酒質多様化のための醸造用酵母変異株の育種とその特性解析を対象としたものである。機能性の観点から酒質の多様化を図るため、第 1 章では、血圧上昇抑制作用や精神安定作用などの機能性を持つ  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) の資化能が低下した酵母変異株を育種し、GABA 高含有清酒の醸造に成功した。得られた変異株では、GABA 分解活性が低下することにより細胞内に GABA が高蓄積した結果、GABA 取り込み能が低下することを明らかにした。また、嗜好性の観点から酒質の多様化を図るため、吟醸香の主要成分である酢酸イソアミルおよびカプロン酸エチルに着目し、従来の高精白米を用いた吟醸酒造りとは異なり、低精白米を用いた清酒醸造において、吟醸香成分を高生産する酵母変異株を育種することにし、第 2 章では、イノシトールホスホリルセラミド合成酵素阻害剤であるオーレオバシジン A に耐性を示す酵母変異株の中から酢酸イソアミルを高生産する酵母変異株を選抜し、低精白米仕込みにおいて酢酸イソアミルを高含有する清酒の醸造を可能にした。さらに得られた変異株では、酢酸イソアミルの合成に関与する酵素をコードする *ATF1* の転写活性化因子 *MGA2* にホモ接合型ナンセンス変異 (Ser706\*) が生じることにより、*ATF1* の発現量を増加させるとともに不飽和脂肪酸による *ATF1* の発現抑制が緩和されることを明らかにした。第 3 章では、第 2 章で育種した酢酸イソアミル高生産性酵母を親株として得られたセルレニン耐性株の中から、低精白米仕込みにおいて、酢酸イソアミルおよびカプロン酸エチルを高生産する酵母変異株を選抜し、低精白米を用いた吟醸香の高い清酒醸造に成功した。得られた変異株では、カプロン酸エチルの前駆体であるカプ

ロン酸の生成量およびカプロイル-CoA からカプロン酸エチルへの反応を触媒する酵素活性が増加していることを明らかにした。今後、様々な醸造用酵母の育種において、本論文の育種原理が応用されることが期待できる。

#### <論文審査の結果の要旨>

本論文では、清酒酒質の多様化を図るため、遺伝子組換え技術を使用せず、人為的に突然変異を誘発した酵母変異株の中から、新規な選抜方法を駆使して目的とする変異株を育種し、さらに育種株について遺伝子レベルでの詳細な解析を行うことにより、生理的特性を明らかにした点に特徴があり、以下の点に関して評価することができる。

- (1) **GABA** 低下資化性酵母変異株の育種においては、分子生物学的手法を用いて、清酒酵母より作製した遺伝子破壊株の表現型を評価することにより、目的とする表現型に寄与する遺伝子を特定した。そのうえで、遺伝子組換え技術を使わず、突然変異株の中から標的遺伝子に変異が生じた菌株を選抜し、その菌株の特性評価を行うとともに、清酒の実醸造に応用し、実用化できた点は評価できる。
- (2) 従来の吟醸香成分を高含有する清酒醸造方法を根本から覆し、高精白米を用いなくても吟醸香成分を高生産する醸造酵母を新規な二段階の選抜方法を駆使し、突然変異株として育種した点、および育種株を利用することにより、吟醸香成分を高含有する清酒を実用化した点は高く評価できる。すなわち、高精白しないため、米本来の旨みと高い吟醸香を併せ持つ新規な清酒を低コストで製造できるようになり、清酒酒質の多様化に大いに寄与する技術開発に成功した点は清酒醸造上、特筆に価する。
- (3) 吟醸香成分を高生産する酵母変異株の特性解析において、ゲノム解析技術を駆使して、育種株の酢酸イソアミルおよびカプロン酸エチル高生産のメカニズムを遺伝子の転写機構のレベルで明らかにした点は高く評価できる。

本論文の審査に関して、2017年1月28日（土）11時00分から12時30分まで、リンクスクエア演習室2Eにおいて公聴会を開催し、申請者による論文要旨の説明の後、審査委員は学位申請者高橋俊成に対する口頭試問を行った。各審査委員および公聴会参加者より、遺伝子発現量と酵素活性または代謝産物量の関係性、全ゲノム解析のデータの解析方法、脂肪酸合成経路と酢酸イソアミル合成経路の関連性などの質問がなされたが、いずれの質問に対しても申請者の回答は適切なものであった。また、本論文提出後、主査および副査はそれぞれの立場から論文の内容について評価を行った。

以上により、論文審査と公聴会での口頭試問結果を踏まえ、本論文は博士学位を授与するに相応しいものと判断した。

<試験または学力確認の結果の要旨>

論文の公聴会は、2017年1月28日（土）11時00分から12時30分まで、リンクスクエア演習室2Eで行われた。

本学学位規定第23条および24条に基づき、学位申請者に対して学力確認のために専門科目（生化学、微生物学、分子生物学）および外国語（英語）の試験を行った。試験結果を主査、副査で検討した結果、本学大学院博士課程後期課程修了者と同等以上の学力を有することが確認された。

以上の諸点を総合し、本学学位規定第18条第2項に基づき、学位申請者に対し、「博士（理学 立命館大学）」の学位を授与することが適当であると判断する。