

平成17年12月9日 特許ビジネス市

実用酵母の栄養要求性変異株 を利用した交配育種 (実用酵母の育種技術)



山口大学工学部助教授 赤田 倫治
山口TLO

おいしいお酒は酵母から

常識: 醸造酵母は変異株もとれないし
交配もできない

なぜなら

醸造酵母は2倍体

2倍体は突然変異が取れない

2倍体は交配しない(1倍体が交配)

醸造酵母は孢子(1倍体)ができない

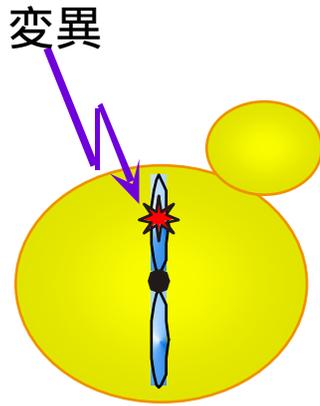
従来は孢子(1倍体)を分離できることが条件
だが、本技術には1倍体を用いる必要がない。

おいしい酵母を育てる方法

1. 突然変異株-----変異を取りにくい
簡単に取れるようにした
2. 交配株-----2倍体では困難
簡単にどんな株とも交配できる
3. 遺伝子組換え株-----消費者が受け入れない
商品化できるセルフクローニング技術

2倍体で変異が取れないと考えていたわけ

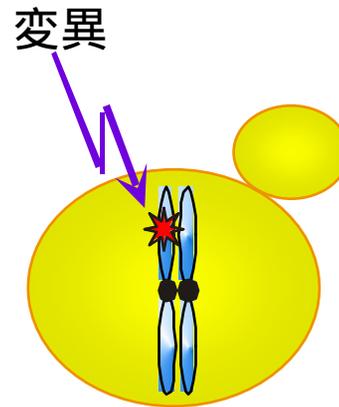
1倍体酵母



変異が取得できる

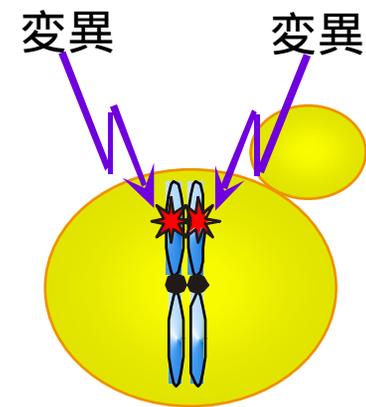
$$10^{-4}$$

2倍体酵母



形質として現れない

$$10^{-4}$$

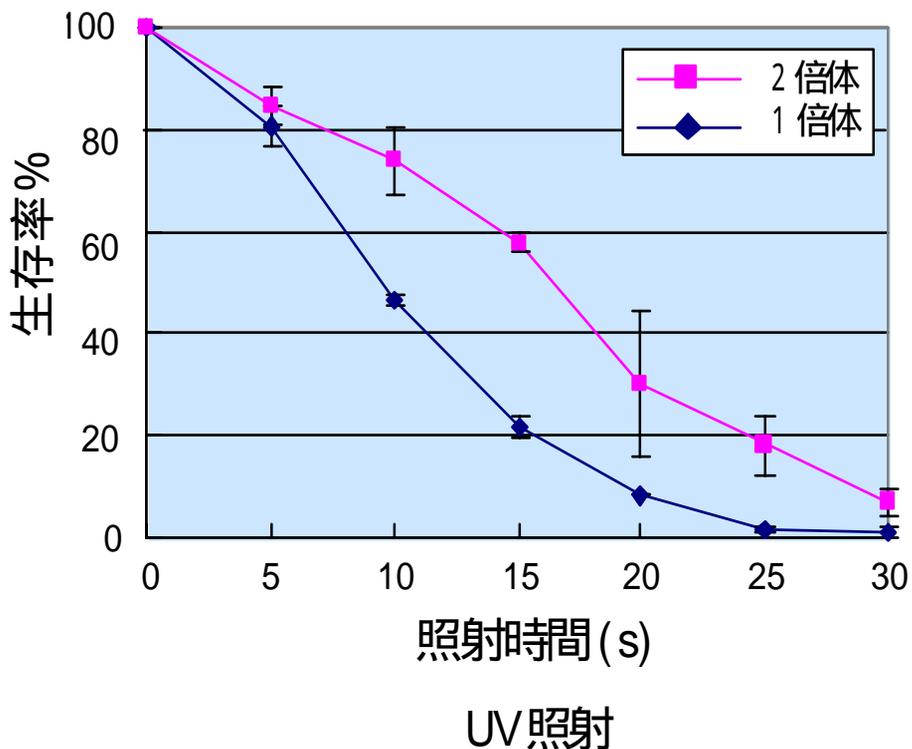


変異が同時に起こる確率は

$$10^{-4} \times 10^{-4} = 10^{-8}$$

紫外線照射による2倍体醸造酵母からの 要求性変異取得

変異誘発による生存率



親株	生存率(%)	調査数	変異株数
協会7号	22.0	3422	2
協会7号H	17.8	1885	1
協会9号	19.3	1696	1
協会10号	13.4	3046	2
協会701号	9.9	2147	3
協会901号	8.1	2998	6

2倍体でも変異はとれる

取得した栄養要求性変異株

取得株名	親株	栄養要求性の種類
RAK1536	協会7号	ヒスチジン
RAK1537	協会7号	メチオニン
RAK1546	協会7号	ヒスチジン+リジン
RAK1763	協会701号	ロイシン
RAK1764	協会701号	アルギニン
RAK1785	協会701号	ウラシル
RAK1786	協会10号	メチオニン
RAK1787	協会10号	トリプトファン
RAK1788	協会9号	トリプトファン
RAK1922 ~ RAK1927	協会901号	トリプトファン

ロイシン要求性変異株を利用した酢の醸造

コーン酢の官能評価結果

サンプル	品質特性	評価点 の平均値	パネラー							
			A	B	C	D	E	F	G	H
要求性株 RAK1763	香り嗜好	4.5	5	4	5	5	4	5	4	4
	味嗜好	3.9	3	4	3	4	4	5	4	4
	酸味強さ	3.4	3	4	2	5	4	3	3	3
協会701号	香り嗜好	3.4	4	2	4	4	5	2	2	4
	味嗜好	3.1	3	4	1	3	5	4	2	3
	酸味強さ	3.1	4	4	2	2	5	3	2	3

パン酵母を3としたときの評価値

(タマノイ酢)

ロイシン要求性株でおいしい酢

おいしいお酒も

おいしいパンも

地元のお酒をおいしくしたい 差別化したい, 特徴を持たしたい



徳山市
山縣本店



下関市
下関酒造



岩国市
酒井酒造



萩市
岩崎酒造

山口県の野生品種桜酵母株
特徴: ほのかな甘い香りのお酒



日本醸造協会の酵母株

7号: 華やかな香りで吟醸用及び普通醸造用に適す

9号: 短期もろみで華やかな香りと吟醸香が高い

10号: 低温長期もろみで酸が少なく吟醸香が高い

701号: 7号の泡なし酵母

901号: 9号の泡なし酵母

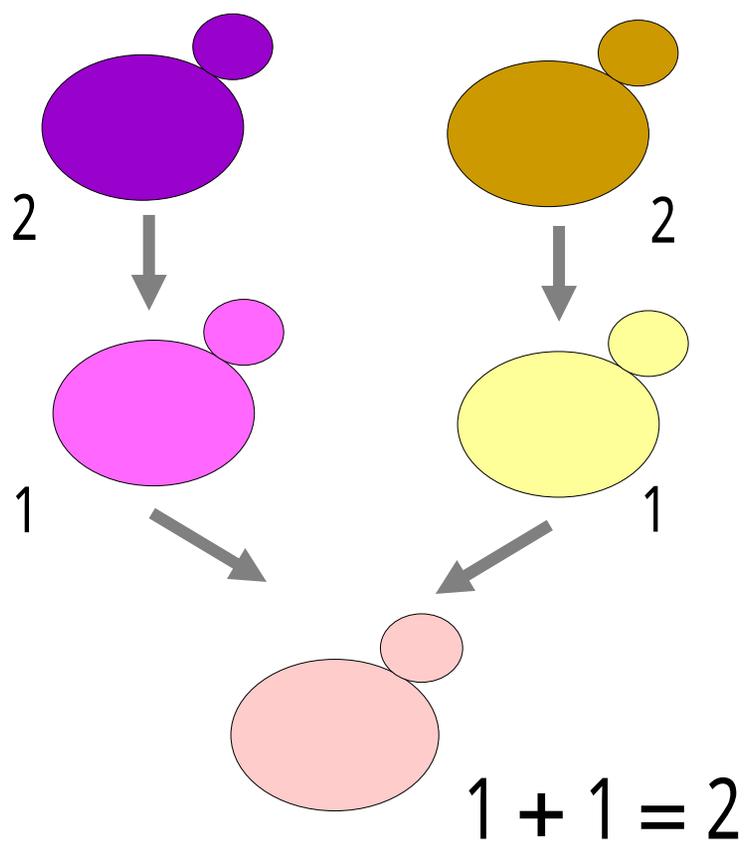
やまぐち桜酵母の清酒

両方の性質を持たせたらよい
掛け合わせればよい!

酵母の新規交配育種法

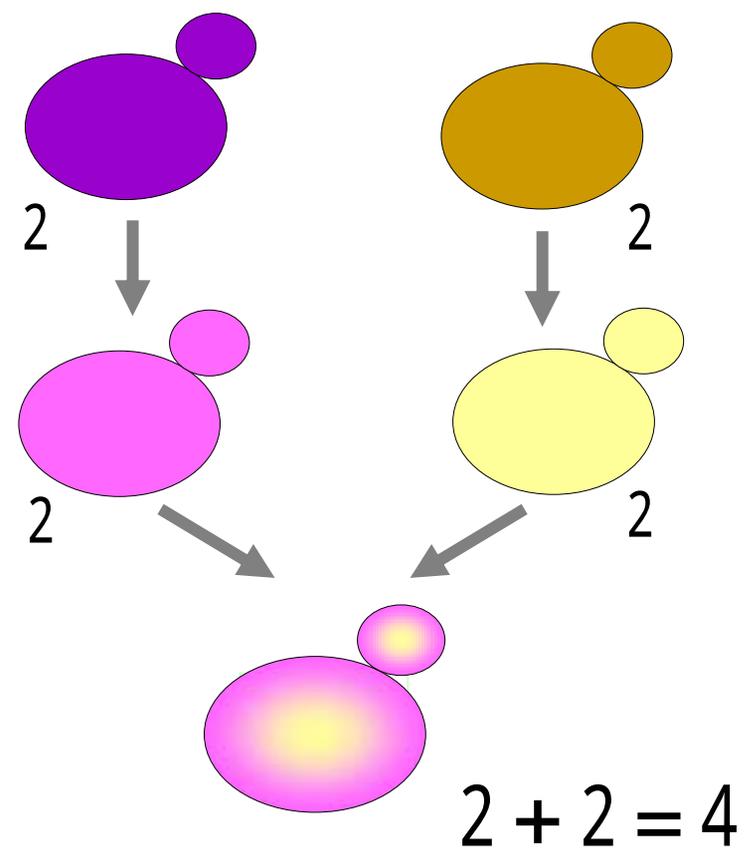
従来法

1倍体を交配していた



新規交配法

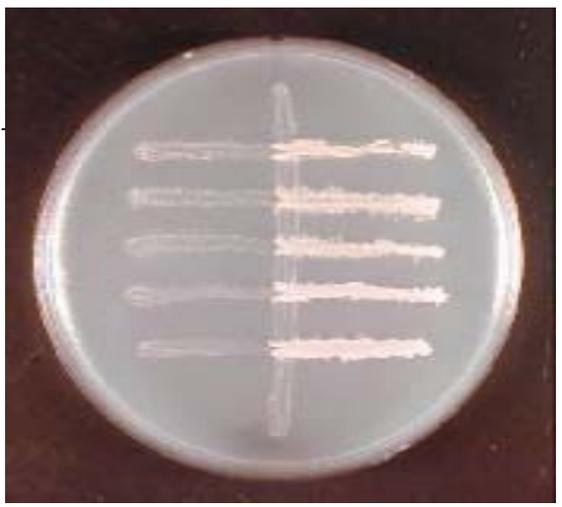
2倍体を交配させ
4倍体にする技術



桜酵母 Ura⁻
aa型

自由自在に交配

型



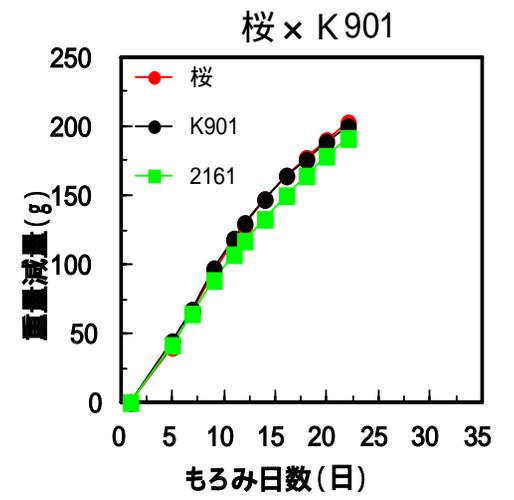
- 協会7号 His⁻/Lys⁻
- 協会701号 Leu⁻
- 協会9号 Trp⁻
- 協会901号 Trp⁻
- 協会10号 Trp⁻

最少培地

小仕込み試験



4
倍
体



官能評価

1 ; 良、 2 ; 普通、 3 ; 不良

菌株	2158	2159	2160	2161	新やまぐち
交配	桜	桜 x 7	桜 x 701	桜 x 901	桜 x 10

総合評価	2.3	2.0	1.3	1.1	1.3	1.1
香	2.0	1.5	1.3	1.3	1.3	1.3
味	2.3	1.5	1.3	1.3	1.3	1.3

「春色」の商品化



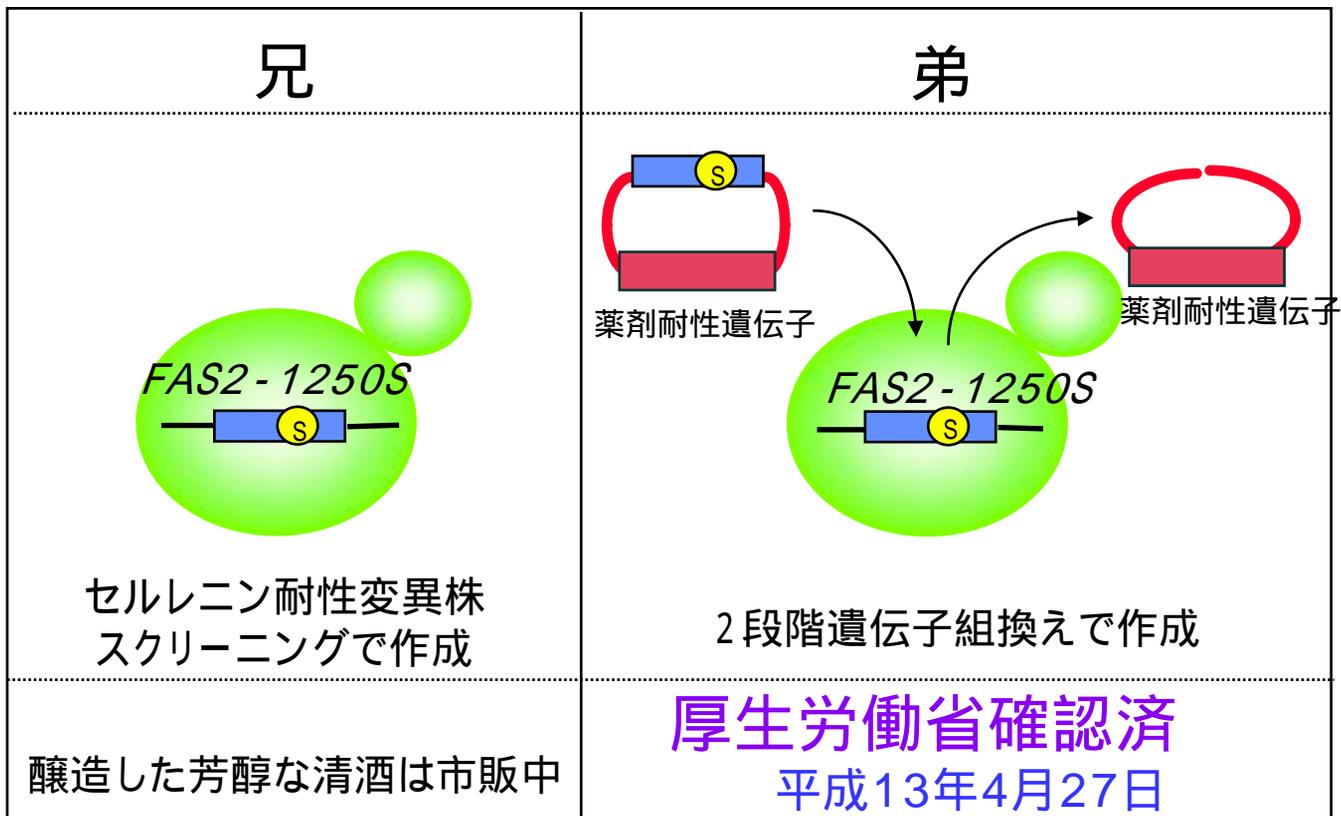
720 ml : 1500円

300 ml : 600円

永山本家酒造

三日で売り切れ

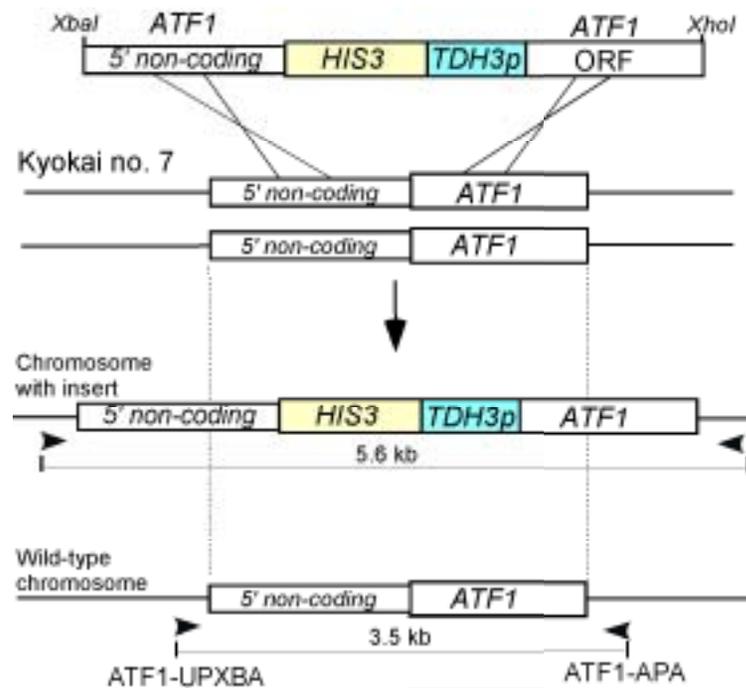
セルフクローニング酵母 (自分の遺伝子だけが操作されること)



平成15年春市場へ

変異株を利用すればセルフクローニング酵母育種が次々に可能となる

取得株名	親株	栄養要求性と遺伝子
RAK1536	協会7号	Histidine HIS3
RAK1537	協会7号	Methionine
RAK1546	協会7号	His+lysine LYS4
RAK1763	協会701号	Leucine LEU4
RAK1764	協会701号	Arginine
RAK1785	協会701号	Uracil
RAK1786	協会10号	Methionine
RAK1787	協会10号	Tryptophan TRP3
RAK1788	協会9号	Tryptophan
RAK1922 ~ RAK1927	協会901号	Tryptophan TRP3



香気成分	K7	RAK1884
ppm	親株	ATF1操作株
酢酸イソアミル	5.7	15.4

Saccharomyces cerevisiae

酵母利用食品類 10兆円産業

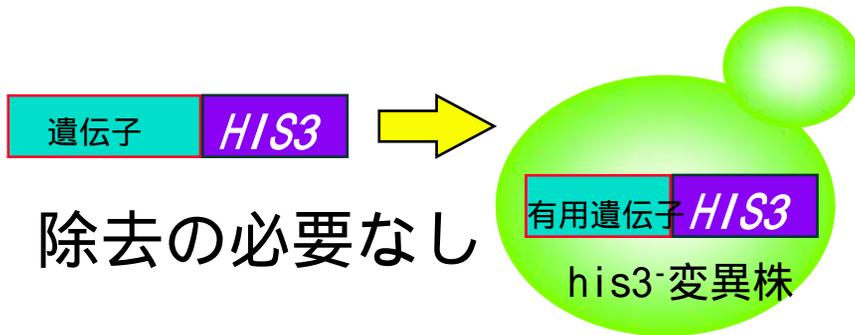
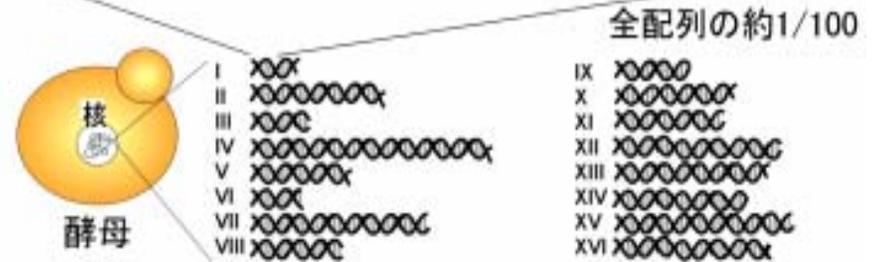
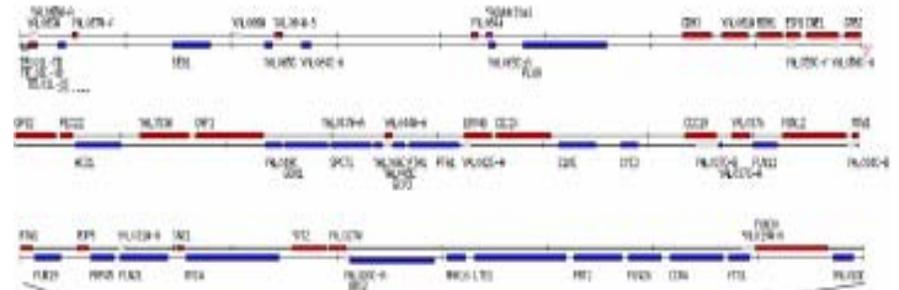


ビール	2兆2千億円
パン	1兆3千億円
清酒	7千億円

酵母ゲノム6000個の遺伝子で醸造, アルコール生産を改良する株を育種

酵母ゲノム

全塩基数12,070,542 bp



ゲノムに対応するハイス
ループット化と実用化

関連特許： 酵母の形質転換法



和光純薬工業からの商品化
S. cerevisiae Direct Transformation Kit

提供特許の詳細

- **名称:有用酵母の栄養要求性変異株とその育成方法**
出願番号:特願2001 - 58056(出願日:2001.3.2)
公開番号:特開2002 - 253212(審査未請求)
出願人 : (有)山口ティー・エル・オー

- **名称:実用酵母の栄養要求性変異株を利用した
交配育種**
出願番号:特願2002 - 172280(出願日:2002.6.13)
公開番号:特開2004 - 016028(審査請求中)
出願人 : (有)山口ティー・エル・オー

その他関連特許:6件

特許請求の範囲（概要）

特願2001 - 58056

2倍体以上有用酵母を変異処理することによって得られる有用酵母の栄養要求性変異株

特願2002 - 172280

異なる栄養要求性変異株のa型又は 型株とを交配させることにより、2倍体以上の交配株を採取できることを特徴とする実用酵母の栄養要求性変異株の交配育種方法

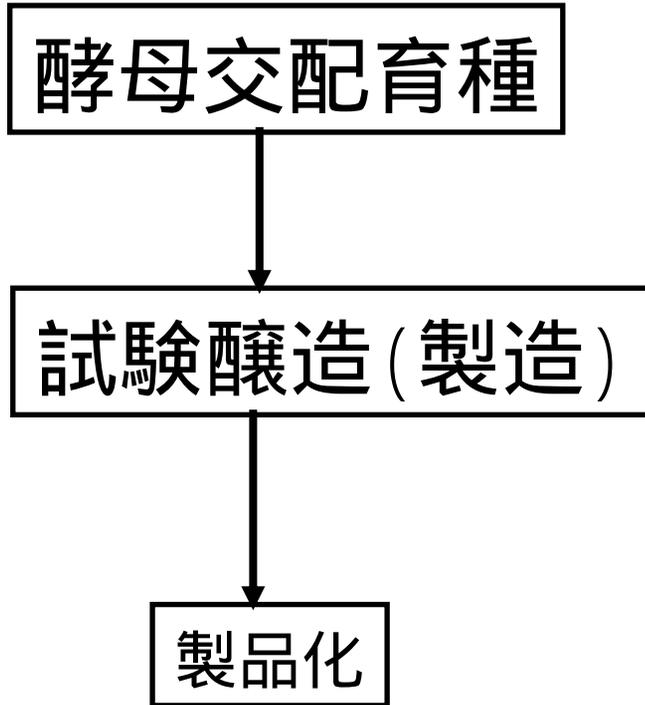
本特許技術の優位性・特徴 (酵母交配育種)

本特許技術により、新しい特徴を持った酵母の交配育種が容易に行える。

地域の醸造食品企業でも、新製品
(地域ブランド)の開発が容易に行える。
(清酒:「春色」の実施例)

ビジネスプランご提案 - (1) (酵母交配育種)

地域ブランドのお酒(発酵食品)を開発してみませんか
・差別化したい 味や香りに特徴を持たせたい



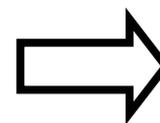
山口大学 赤田先生研究室との
共同研究・技術指導・ノウハウ提供
費用:100万円/件

ライセンス料 1%

対象市場

- ・アルコール飲料(清酒・焼酎・ビール・ワイン)
味噌・醤油・食酢 等の醸造事業所
= 4,400ヶ所
- ・パンメーカー : 3,500ヶ所

90%が地域企業
うち1%程度が、顧客候補と仮定



70社程度が
マーケット

・1社あたりの平均売上高 = 約3億円 / 年
・新製品シェア10%とすると、製品ライセンス料
= 3億円 * 10% * 1% = 30万円 / 社 / 年

予想売上げ計画

商品・サービス	第1期 (06年度)	第2期 (07年度)	第3期 (08年度)
・新規酵母交配・開発 (1,000千円 / 件)	2件 2,000	4件 4,000	4件 4,000
・新製品ライセンス料 (300千円 / 件 / 年)	- -	2件 600	6件 1,800
合計	2,000	4,600	5,800

(単位:千円)

ビジネスプランご提案 - (2) (酵母セルフクローニング)

新規の酵母株の共同研究・開発

・研究実施例

芳香成分を高生産する清酒用醸造酵母の育種

(例: 吟醸酒)

酢酸イソアミル(洋梨様の香り) 生産量3倍

カプロン酸エチル(林檎様の香り)

課題: 伝統的・保守的市場への参入

・今後期待される応用分野

バイオ燃料用アルコール分野への応用展開

課題: 酵母ゲノムレベルでの発酵関連遺伝子の開発には
5000万円(3 - 5年)程度必要

ご連絡先

(有)山口ティール・エル・オー

〒755-8611 山口県常盤台2 - 16 - 1

山口大学地域共同研究センター内

TEL : 0836 - 22 - 9768

FAX : 0836 - 22 - 9771

E - mail tlojim@crc.yamaguchi-u.ac.jp

<http://www.crc.yamaguchi-u.ac.jp/tlo/>