

# 清酒酵母研究の歩み

中 里 厚 実\*†

(平成 27 年 11 月 27 日受付/平成 27 年 12 月 4 日受理)

**要約:** 我々人類の生活に最も深くかかわってきた酵母の一つに *Saccharomyces* 属が存在する。1838 年 Meyen によって分離された酵母が *S.cerevisiae* と命名されて以来, *Saccharomyces* に属する多くの酵母が分離されている。一方, *S.cerevisiae* には多くの実用酵母が含まれる。すなわち, 清酒酵母は葡萄酒酵母やパン酵母と同種と考えられていた。しかし, ビオチンの要求性において清酒酵母と他の実用酵母に差異があることが約半世紀前に初めて認められた。以来, イーストサイジンに対する抵抗性, 細胞表面の荷電状態, 高濃度アルコール生成など, 清酒酵母と他の実用酵母の多くの相違が細胞学的, 醸造学的見地から報告された。さらに, 1990 年代に入り, 電気泳動法により生化学的, 染色体的見地からの相違が報告された。情報科学の発展と共に 2010 年代に入り, 清酒酵母のゲノム情報も公開されている。

**キーワード:** 清酒酵母, 特性, 分類

## 緒 論

微生物は我々人類に多大な功罪を及ぼす生物である。そのような微生物のなかで酵母は, 一部の種が皮膚病等の原因になるが, 多くの種が有益あるいは無害な微生物として存在している。では, 有益な酵母は多くの種あるいは属にまたがっているかというところではない。有益な酵母, すなわち産業上使用されている酵母 (実用酵母) は, そのほとんどが *Saccharomyces* という一つの属に含まれる。さらにアルコール産業, 醸造業, 製パン業等で使用されている酵母は一部を除き *Saccharomyces cerevisiae* (以下 *S.cerevisiae*) に含まれる。この *S.cerevisiae* に酒類やパンの製造に使われる酵母は含まれている (日本の大手ビール会社は *S.cerevisiae* でない酵母を使用している)。その見地からすると清酒, 葡萄酒, パン等の製造に使用されている酵母は同じものかという疑問が残る。しかし, 実用上は清酒酵母, 葡萄酒酵母, パン酵母という名称に分けて使用されている。この名称は実用上区別するための利便性による呼び方なのか, 実際に性状の違いがあつての呼び方なのか考えが分かれる点である。

この点を解明すべく筆者が所属していた研究室では, 先々代の教授である塚原先生の代から約半世紀にわたる研究がなされてきた。

### 1. 実用酵母のビタミン (ビオチン) 要求性

日本における実用酵母のビタミン要求に関する研究は 1954 年に高橋<sup>1)</sup> がビール酵母とアルコール酵母について, 1958 年に山口<sup>2)</sup> がパン酵母について, 1961 年に後藤<sup>3)</sup> が葡萄酒酵母について行っている。彼らが実験に供試したビール酵母, アルコール酵母, パン酵母, 葡萄酒酵母は一

様にビオチンを要求することを報告している。しかし, 対象として用いた清酒酵母はビオチンを要求しないと報告している。3 人の研究者によって使用された清酒酵母は 2, 3 株であったためインパクトは低かった。

1970 年代に入って竹田<sup>4)</sup> は多数の清酒酵母を含めた実用酵母のビタミン要求試験を行い, 清酒酵母がビオチンを要求しないことを確認した。

高橋<sup>1)</sup> や山口<sup>2)</sup> によって清酒酵母のビオチン非要求性が示唆されていたが, 300 株以上の清酒酵母を用いて清酒酵母のビオチン非要求性を確認したのは竹田<sup>4)</sup> であった。多くの実用酵母が同じ種である *S.cerevisiae* に含まれるため, 実用酵母間の性状の違いは報告されていなかったが, ビオチンの要求性の違いで初めて区別されることが確認された。清酒酵母の特性に関する研究の始まりである。

### 2. カリウム欠如培地における実用酵母の増殖の差異

カリウムは生物にとって必須のミネラルである。微生物の実験に使用される培地には必ずこのミネラルは含まれている。しかし, 1970 年竹田<sup>4)</sup> はこのミネラルを含有しない培地でも清酒酵母の多くが増殖できることを報告した。この実験に使用される合成培地は糖濃度が高く pH が 4.0 とやや特殊な培地であるが, この培地を使用すると清酒酵母と他の実用酵母を区別することができる。

### 3. 麹菌培養液含有培地における実用酵母の増殖の差異

微生物の培養には栄養素を含んだ培地が使用される。近年はあまり使用されなくなったが, 過去には麹汁や麦芽汁も天然培地として頻繁に使用された。

\* 東京農業大学名誉教授

† Corresponding author (E-mail: nakaatsu@cyber.ocn.ne.jp)

この麴抽出液で作った培地、すなわち麴汁に麴菌を28日間液体培養したろ液を培地とする。この麴菌培養液には麴菌が生産した未知の実用酵母に対する抗菌性物質（イーストサイジン）が含有される。実際には麴菌培養液に新しい麴汁を適量加えて使用される。この培地に実用酵母を接種して培養すると、清酒酵母は増殖するが他の実用酵母は増殖できない。この増殖の差異によって清酒酵母と他の実用酵母が区別されることが報告された<sup>4)</sup>。

麴汁は清酒を製造する際に使用される高温糖化醗をろ過したものと同様である。また、麴菌は麴製造時のように固体培養される場合が多いが、この培地のように液体培養されることにより麴菌に付加されたストレスが影響している可能性がある。

#### 4. 酵母と乳酸菌との凝集性の差異

微生物は分裂や出芽で増殖を繰り返すが、その際に母細胞と娘細胞は分離して細胞数を増やしていく。しかし、培養条件やいろいろな状況により細胞が分離しないで凝集したような状態になることもある。また、完全に分離した細胞でも細胞表面の状況により、他の細胞と凝集作用を起こすことがある。

1968年、百瀬ら<sup>5)</sup>によって実用酵母は乳酸菌と凝集作用を起こすが、清酒酵母はそのような現象を起こさないことが報告された。1970年、竹田ら<sup>4)</sup>によってこの現象は実用酵母の中でも清酒酵母のみが持つ特性であることが確認された。

この現象は酵母細胞と相手細胞である乳酸菌(*Lactobacillus casei*)をおのおの単独で培養し、pH3.0のbufferで菌体洗浄後、両者を混合することにより確認される。清酒酵母以外の実用酵母は瞬間に凝集現象を起こし、沈殿してしまう。しかし、清酒酵母は乳酸菌と凝集しないためしばらくの間沈殿しない。この実験で重要なポイントはbufferのpHを3.0~3.5にすることである。この凝集は静電的

表1 各種培地における清酒酵母と他の実用酵母の増殖の差異

	清酒酵母	他の実用酵母
ピオチン欠如培地	+	-
カリウム欠如培地	+、-	-
麴菌培養液含有培地	+	-

表2 細胞表面構造の相違と考えられる性状の差異

	清酒酵母	他の実用酵母
pH3.0における乳酸菌との凝集性の差異	凝集ナシ	凝集
清酒醗での高泡形成の差異	多くが形成	形成ナシ
抗原構造(抗原No. 5の保持)の差異	保持ナシ	保持
pH3.0における細胞表面荷電状態の差異	正に荷電	負に荷電

な作用によるものと考えられる。この場合、凝集相手の乳酸菌が同じなのに、凝集現象が異なるということは、酵母細胞表面の静電的な状態が異なることを示唆している。つまり、pH3.0~3.5のbuffer中では清酒酵母と他の実用酵母は細胞表面の状態が異なることを示唆している。

#### 5. 清酒醗中での高泡形成の差異

清酒は蒸米、米麴、水のみで製造される。これに培養酵母を添加するか、空気中からの酵母の侵入により発酵が行われる。発酵は3~4週間かけて行われるが、比較的初期において発酵ガスに酵母が付着した高泡が形成される。清酒酵母の代わりに他の実用酵母を添加して実験を行っても、高泡は形成されない。竹田ら<sup>4)</sup>は清酒酵母を含めた多数の実用酵母を使って実験し、高泡の形成が清酒酵母の特性であることを報告した。

この高泡は酵母の発酵により放出された炭酸ガスに酵母が付着し炭酸ガスの泡が破裂しにくくなっているために形成されると考えられている。他の実用酵母や例外的に高泡を形成しない清酒酵母は炭酸ガスの泡への付着度が低く、泡が破裂しやすくなっていると考えられている。泡への酵母の付着度の違いは、先の乳酸菌との凝集性の差異と同様に酵母の細胞表面の状態の違いと考えられる。

#### 6. 抗原構造の差異

1975年、小玉ら<sup>6)</sup>は清酒酵母を含む*S.cerevisiae*に同定されている実用酵母22株を用いて血清学的実験を行った。すなわち、家兎の血管に供試酵母接種し、兎に抗原抗体反応を起こさせ、その血清を使用して酵母の凝集性でタイプ別に分けようとするものである。

その結果、清酒酵母は抗原構造1. 2. 4を持ち、他の実用酵母の多くは抗原構造1. 2. 4. 5であることを報告した。

その後1981年、竹田ら<sup>7)</sup>は*S.cerevisiae*に同定された樹液酵母を含む327株の実用酵母について、小玉らと同様の実験を行った。清酒酵母は小玉らの結果と同様に、清酒酵母協会9号と他の2株が例外的であったが、126株中123株が抗原5を持たないと報告した。血清学的手法を用いて清酒酵母と他の実用酵母が区別されるという最初の報告であった。

#### 7. 清酒醗における高濃度アルコール生成と酵母の生存

清酒は蒸米と麴の混合物に水を加え、酵母を添加することにより製造される。清酒の特徴としては精白度の高い米と米麴の使用、さらに汲み水の割合が少なく、高密度の醗となることである。このような環境は酵母にとってベストな環境とは言い難い。そのような環境でも20%以上のアルコールを生成するのが清酒酵母と言える。

竹田ら<sup>8)</sup>はこの点を解明すべく清酒酵母126株を含む実用酵母327株を用いて実験を行った。その結果、清酒酵母は126株中124株が20%以上のアルコールを生成し、それに準ずるのが焼酎・泡盛酵母を含むアルコール酵母で59株中53株が20%以上生成した。それに比べ他の実用酵母

は20%以上生成する株はほとんどなかったと1982年に報告した。麴を原料とする酒類の製造に関与する酵母が20%以上のアルコール生成能力を持つ点は興味を持たれる。

酵母が20%以上のアルコールを生成するという事は、アルコール濃度が過酷な条件になっても生存し、アルコール発酵を続けることができることを示している。この点について竹田ら<sup>9)</sup>は20%以上の高濃度のアルコールが生成されても清酒酵母は生存しうることを報告した。このことは清酒酵母が高密度な仕込条件、米麴の使用、低温発酵等過酷な条件のなかで、その環境に適応し、増殖する能力を獲得し、選択されてきた酵母であることを示している。

表3 実用酵母の清酒醪における高濃度アルコール生成

酵母	供試株	高濃度アルコール生成株
清酒	126	124
アルコール (焼酎) (泡盛)	59 (28) (13)	53 (28) (12)
葡萄酒	77	5
ビール	15	0
パン	20	0

## 8. 生活環の差異

多くの実用酵母が含まれる *S.cerevisiae* は、有孢子酵母であり、環境の変化により子のう胞子を1~4個形成する。胞子を形成するという事は、その倍数性が2倍体以上であることを示している。生活環にはヘテロタリズムとホモタリズムが存在することが明らかにされている<sup>10)</sup>。

筆者ら<sup>11)</sup>は1984年、酵母無添加の清酒醪、葡萄酒醪、焼酎醪から分離された酵母、樹液酵母、葡萄果実と葡萄園から分離された酵母計192株の生活環を調べ報告した。まず、酵母の4孢子形成能力を調べ、確認された供試株の4つの胞子をマイクロマニピュレーターを使用して単独分離し、各々発芽させた。さらにそれらの発芽株の胞子形成を確認してヘテロタリズムであるか、ホモタリズムであるかを確認した。

その結果、清酒酵母は29株全てがヘテロタリズムであった。しかし、葡萄酒酵母、焼酎酵母、樹液酵母、葡萄果実と葡萄園から分離された酵母は1株の例外を除き、162株全てがホモタリズムであった。生活環からも清酒酵母と他の実用酵母が区別されることが示された。

表4 生活環の差異

清酒酵母	他の実用酵母
ヘテロタリズム	ホモタリズム

## 9. 細胞表面荷電状態の差異

清酒酵母は他の実用酵母と細胞表面の状態が異なるので

はないかと、乳酸菌との凝集性、高泡の形成、抗原構造の見地から述べてきた。

角野ら<sup>12)</sup>は上記3つの方法とは異なる方法で、清酒酵母協会7号とパン酵母の細胞表面荷電状態が異なることを報告した。筆者ら<sup>13)</sup>は1984年、角野の方法に準じ、清酒酵母152株、焼酎・泡盛酵母80株、ビール酵母15株、パン酵母20株、葡萄酒酵母77株、紹興酒酵母10株、*S.cerevisiae*に同定された樹液酵母を含む合計384株を用いて細胞表面の荷電状態を調べ報告した。

すなわち、供試株を培養後、pH3.0の溶液に懸濁、U字型の細胞泳動管を使用して酵母細胞の移動方向と距離を測定した。その結果、清酒酵母はpH3.0の懸濁液に2mAの電流を流すことにより、-極方向に移動した。一方、供試したパン酵母、ビール酵母、葡萄酒酵母、紹興酒酵母、樹液酵母は+極方向に移動した。このことはpH3.0において清酒酵母は+に荷電しており、パン酵母等は-に荷電していることを示している。焼酎・泡盛酵母は多くが-に荷電していたが、+荷電の株も存在した。清酒酵母協会9号は例外的に-荷電であった。

以上の結果は清酒酵母と他の実用酵母の細胞表面の構造が異なることを示唆している。

## 10. VI番染色体長の差異

アガロース電気泳動法はDNAを分離する方法として利用されていたが、この方法では20kb前後のDNAを分離するのが限界であった。しかし、泳動方向に角度を与えることにより巨大なDNAを分離することができるパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)が開発されたことにより、巨大DNAの分離が可能となった。

*S.cerevisiae*は16本の染色体を持つが、PFGEによりその分離が可能となった。筆者らは清酒酵母と他の実用酵母の染色体長の解析およびそのパターンを解析するためPFGEを行った。パイオラド社のCHEF DR IIを使用し、様々な条件設定をして検討した結果、200V、24時間、パルスタイム100~45秒の条件で分離が可能となった。この条件は実用酵母の染色体を分離するのにベストな条件と思われるが、7番染色体と15番染色体など長さがほぼ同じなものもあるため16本の染色体を完全に分離することは

表5 実用酵母のVI番染色体長(平均)の差異

酵母	染色体長(kb)
清酒	287
焼酎	284
泡盛	276
アルコール	268
ビール	258
パン	256
葡萄酒	256

不可能であった。しかし、小さいほうから4本、すなわちI番、VI番、III番、IX番染色体のパターンに特徴があることを見出した。VI番染色体とIII番染色体はI番とIX番の間に挟まれるかたちで分離されるが、清酒酵母のVI番染色体はIII番染色体に近いかたちで、他の実用酵母はやや離れたかたちで分離された。この結果は清酒酵母のVI番染色体は他の実用酵母のVI番染色体より長いことを示している。酵母別にみると清酒酵母のそれが最も長く、ついで焼酎・泡盛酵母が長く、ビール酵母、パン酵母、葡萄酒酵母は短いグループに入った。しかし、清酒酵母のVI番染色体も株ごとに長さのばらつきがあり、一定ではなかった。

以上のように実用酵母のVI番染色体は酵母ごとに差異があることが、1998年筆者ら<sup>14)</sup>によって報告された。

### 11. VI番染色体左腕の差異

前項で清酒酵母のVI番染色体は他の実用酵母のVI番より長いことを述べたが、その要因を調べるため、制限酵素によるVI番染色体の解析を行った。*Sfi* I, *Asc* I, *Pme* I, *Not* I など各種の制限酵素で解析を行った結果、8塩基認識の *Not* I で切断した場合に特徴的な断片が確認された。清酒酵母のVI番染色体に *Not* I を作用させると9kbまたは16kbの断片が確認された。一方、*S.cerevisiae* に同定されている実験室酵母の AB972, 葡萄酒酵母, パン酵母, ビール酵母では確認されなかった。この結果は、*Not* I の認識部位を清酒酵母は持つが、葡萄酒酵母等は持たないことを示している。さらに突き詰めると、*Not* I サイトは8塩基と短い、この部分において清酒酵母と葡萄酒酵母等他の実用酵母とは配列が異なることを示している。しかし、興味あることに清酒酵母協会7号が分離される以前に分離された協会5号、IFO 0309などは *Not* I サイトを保持していなかった<sup>15)</sup>。

これらの断片を生じさせる *Not* I の作用部位は、ハイブリダイゼーション解析の結果からVI番染色体左腕の末端近くにあることが確認された。

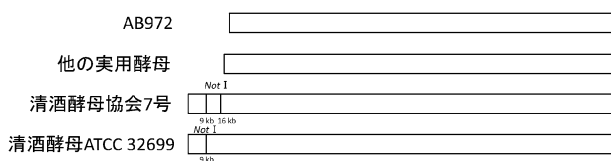


図1 VI番染色体における *Not* I サイトの存在

### 12. 36 kD タンパク質の泳動パターンの差異

染色体などの巨大なDNAを分離するにはPFGEが用いられること前項で述べた。一方、タンパク質を分離するにはSDS-PAGEが用いられる。筆者らは清酒酵母と他の実用酵母間にいくつかの性状の違いを確認していることから、タンパク質の電気泳動パターンにも違いがみられないだろうかと考え全菌体を試料とした電気泳動を行った。まず、集菌した菌体を破壊後、遠心、固形物を分離し、上澄み液を調製した。その後、タンパク量を調整し、SDS-

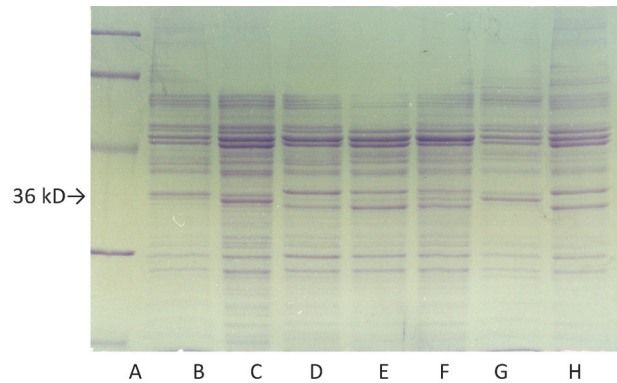


図2 36 kD タンパク質の SDS-PAGE

レーン A: マーカー  
 レーン B: AB972  
 レーン C: K7 (清酒)  
 レーン D: IFO2018 (ビール)  
 レーン E: IFO2363 (葡萄酒)  
 レーン F: IFO2114 (アルコール)  
 レーン G: SI5 (焼酎)  
 レーン H: CBS1171 (標準株)

PAGE を行った。

その結果、36 kD 付近の3本のバンドパターンに酵母間で相違がみられた。清酒酵母は中央のバンドが強く発現していたが、葡萄酒酵母、ビール酵母、アルコール酵母や *S.cerevisiae* の標準株は上下の2本が強く発現していた。

このタンパク質はその後の研究で解糖系の酵素であるグリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼであることが分かった。解糖系の酵素であることは清酒酵母が高濃度のアルコール発酵能力を持つことと関連して興味を持たれる。筆者らはこれらの点を踏まえ、清酒酵母と他の実用酵母の違いとして2000年に報告した<sup>16)</sup>。

### 13. 2 μmDNA プラスミド保持の差異

第10項でも述べたように実用酵母は16本の染色体を持ち、それらにコードされている遺伝子にコントロールされて生命活動を行っている。染色体に載っている遺伝子のみで生命活動を行うには充分であるように思われるが、核外遺伝因子であるプラスミドを保持している酵母が存在する。細菌の場合は、その菌の特性を現わすのに重要であったり、生命活動に必要な遺伝子が載っていたりする場合がある。しかし、実用酵母 (*S.cerevisiae*) は2 μmDNA を保持している株と保持していない株があるが、その生命活動に差があるようには見られない。

まず、筆者らは実用酵母の2 μmDNA 保持についてアルカリ SDS 法で確認を行った。清酒酵母192株、葡萄酒酵母55株、ビール酵母14株、パン酵母20株、焼酎・泡盛酵母45株など合計263株を供試した。その結果、清酒酵母の全株と泡盛酵母の15株において2 μmDNA の存在を確認できなかった。それに対し、パン酵母とビール酵母では85%以上、葡萄酒酵母では60%以上の確率で確認された。焼酎酵母は30%の株で確認された<sup>17)</sup>。このような結果は製品の製造に麹が使用されるか否か、酒類が製造さ

れる過程での醪の最高アルコール濃度と関連して興味を持たれる。しかし、 $2\mu\text{mDNA}$ のある遺伝子の塩基配列を参考にプローブを設計し、清酒酵母を試料としたコロニーPCR法で増幅をはかるとバンドが確認されることもあるのでさらなる研究が必要である（未発表）。

表 6 各種実用酵母における  $2\mu\text{m DNA}$  の分布

酵母	供試株	$2\mu\text{mDNA}$	
		保持	非保持
清酒	192	0	192
泡盛	15	0	15
焼酎	30	10	20
葡萄酒	55	34	21
アルコール	7	4	3
パン	20	17	3
ビール	14	13	1

#### 14. まとめ

約半世紀前にビオチンの要求性で清酒酵母と他の実用酵母が区別されることが発見されて以来、現在までに数々の相違点が発見されている。

多くの清酒酵母はカリウム欠如培地でやや生育が落ちるものの増殖が可能である。しかし、ナトリウムが培地に入っていないと増殖ができないことからカリウムとナトリウムの輸送系に関係がある現象ではないかと考えられている。明治、大正期に清酒醪から分離された酵母のなかには、カリウム欠如培地で増殖できない株が存在する。これに対し、協会7号酵母に代表されるように昭和、特に20年以降に分離された酵母はカリウム欠如培地で増殖可能な株が多い。このことは酒米の精白度の上昇と関連性があるように思われる。兵庫灘地方に創業以来培養酵母を添加しないで、蔵付き酵母で清酒造りをしている蔵がある。その蔵で阪神淡路大震災前に分離された酵母は、カリウム欠如培地で増殖できないが<sup>18)</sup>、震災後に分離された酵母は増殖可能であったことも関連があるように思われる<sup>19)</sup>。

酵母の細胞壁は最外殻にマンナン層、その内側にグルカン層があり、その2成分で80%前後を占める。その他、10数%のタンパク質と脂質、ミネラルなどで構成されている。酵母と乳酸菌との凝集性、高泡の形成、抗原構造、細胞表面荷電状態で清酒酵母と他の実用酵母は区別されるが、これらは細胞壁構造に起因するものと考えられる。

清酒酵母協会9号は例外的に抗原No.5を持ち、pH3.0での荷電状態が-であることから、この点を解明すれば差異の原因解明のヒントになると思われる。高泡の形成も醪中の気泡に酵母細胞が付着することにより形成されると解明されている。高泡を形成しない株あるいは弱い株は気泡に付着しないか付着が弱い株であると考えられている。

清酒の製造には必ず麴が使用される。裏返して言えば、

麴を使用しなければ清酒として認められない。麴は蒸米に麴菌を増殖させたものであるが、蒸米に麴菌が作用することによりある種の成分が生産され、その成分あるいは麴菌自体の成分が醪に移行することにより、7項で述べたように酵母が高濃度のアルコールを生産できるようになったと考えられる（仕込方法もその要因であるが）。また、12項で述べた36kDタンパク質が解糖系の酵素であることを考えると、これも清酒酵母の高濃度アルコール生成の一要因である可能性が高い。酵母が増殖、発酵する環境に麴が使用されていることにより、清酒酵母と他の実用酵母、特に葡萄酒、パン、ビール酵母と差異が形成されたと考えられる。清酒醪にはイーストサイジンは生産されていないと考えられているが、麴菌を液体培養することにより、その環境の変化に対応して生産された物質に清酒酵母が対応力あるいは耐性を持っていても不思議ではない。

清酒酵母はヘテロタリックなライフサイクルをとることを8項で述べた。第3番染色体にヘテロタリズムとホモタリズムをコントロールする遺伝子が存在する。近年、清酒酵母のゲノム解析が行われ<sup>20)</sup>、その結果が公開されているのでその点のくわしい解明も近いと思われる。

筆者は清酒酵母のゲノム解析が公開される以前から酵母の染色体に興味を持ち、PFGEが開発されたことにより、実用酵母の染色体DNA解析を行ってきた。実用酵母が含まれる *S.cerevisiae* は16本の染色体を持つが、ほとんど同じな染色体を2本含むため、PFGEでは15本のバンドが確認される。また、短いほうから4本、すなわちI、VI、III、IX番染色体のバンドパターンに実用酵母ごとの特徴があることを突き止めた。清酒酵母のVI番染色体はパン酵母、ビール酵母、葡萄酒酵母より約30kb長いことが判明した。また、その左腕には制限酵素 *Not I* に切断される特徴的な配列を有することが確認された。

日本人に最もなじみのある清酒、その醸造に関与する清酒酵母の研究は古来、多くの日本人研究者によって行われてきた。約半世紀前に他の実用酵母との性状の違いが発見されて以来、筆者の所属した研究室ではその点を追求してきた。分子生物学的手法が開発された今日、過去に確認されている性状の違いがDNAレベルあるいは分子生物学的レベルで解明されることを望んでやまない。

#### 文献

- 1) 高橋雅弘 (1954) 酵母の Amino Acids 及び Vitamins 要求に就いて (第2報). 農化. 28 : 398-404.
- 2) 山口辰良 (1958) パン酵母の分類に関する研究 (第5報). 農化. 33 : 508-513.
- 3) 後藤昭二 (1961) ブドウ酒酵母のビタミン要求性. 醸工. 39 : 705-709.
- 4) TAKEDA M, TSUKAHARA T (1970) Characteristics of Sake Yeasts. *J. Agri. Sci.* 14 : 199-209.
- 5) 百瀬洋夫, 岡崎直人, 外池良三 (1968) 乳酸菌による酵母の凝集現象に関する研究. 醸協. 63 : 686-688
- 6) 小玉健太郎, 小崎道雄, 北原覚雄 (1975) 清酒酵母の血清学的性質. 醸工. 53 : 763-769
- 7) 竹田正久, 中里厚実, 塚原寅次 (1981) *Saccharomyces sake* と *Saccharomyces cerevisiae* の抗原構造の相違. 醸工. 59 :

- 513-516
- 8) 竹田正久, 中里厚実, 塚原寅次 (1982) *Saccharomyces sake* と *Saccharomyces cerevisiae* の清酒醪における高濃度アルコール生成の相違. 醸工. **60** : 137-144
  - 9) 竹田正久, 中里厚実, 塚原寅次 (1983) *Saccharomyces sake* と *Saccharomyces cerevisiae* の清酒醪における生存能, アルコール生産の相違. 醸工. **61** : 201-205
  - 10) 大嶋泰治 (1978) 酵母の接合型変換. 醸工. **56** : 413-424
  - 11) 中里厚実, 竹田正久, 塚原寅次 (1984) *Saccharomyces sake* と *Saccharomyces cerevisiae* のタリズムの相違. 醸工. **62** : 193-196
  - 12) 角野一成, 川瀬 治, 谷 善雄, 福井三郎 (1966) 清酒酵母の生理学的研究. 醸工. **44** : 594-601
  - 13) 中里厚実, 大西淳一, 竹田正久, 塚原寅次 (1984) *Saccharomyces sake* と *Saccharomyces cerevisiae* の細胞表面荷電状態の相違. 醸工. **62** : 313-315
  - 14) 中里厚実, 門倉利守, 山本京子, 原山 格, 大熊盛也, 竹田正久, 工藤俊章, 金子太吉 (1998) 各種醸造酵母の核型と清酒酵母の特徴. 醸協. **93** : 67-75
  - 15) NAKAZATO A, KADOKURA T, AMANO M, HARAYAMA T, MURAKAMI Y, TAKEDA M, OHKUMA M, KUDO T, KANEKO T (1998) Comparison of the Structural Characteristics of Chromosome VI in *Saccharomyces Sensu Stricto* : The Divergence, Species-Dependent Features and Uniqueness of Sake Yeasts. *YEAST*. **14** : 723-731
  - 16) KADOKURA T, ITO T, TAKANO S, NAKAZATO A, HARA H, WATANABE S, KUDO T, TAKEDA M, KANNEKO T (2000) Divergence of Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Isozymes in *Saccharomyces cerevisiae* Complex. *System. Appl. Microbiol.* **23** : 198-205
  - 17) 中里厚実, 安 光得, 門倉利守, 竹田正久 (2002) 実用酵母 *Saccharomyces* 及び *Saccharomyces sensu stricto* における 2 $\mu$ DNA の分布. 東京農大農学集報. **47** : 226-230
  - 18) 竹田正久, 十亀弓子, 奥山雅男, 中里厚実, 塚原寅次 (1977) 酵母無添加の山廃使用もろみ中の酵母. 醸協. **72** : 815-817
  - 19) 中山俊一, 姫野高弘, 浅黄勇介, 門倉利守, 奥山雅男, 中里厚実 (2010) 酵母無添加の山廃もと使用醪中の酵母 (II). 東京農大農学集報. **55** : 123-128
  - 20) AKAO T, YASHIRO I, HOSOYAMA A, KITAGAKI H, HORIKAWA H, WATANABE D, AKADA R, ANDO Y, HARASIMA S, INOUE T, INOUE Y, KAJIWARA S, KITAMOTO K, KITAMOTO N, KOBAYASHI O, KUHARA S, MASUBUCHI T, MIZOGUCHI H, NAKAO Y, NAKAZATO A, NAMISE M, OBA T, OGATA T, OHTA A, SATO M, SHIBASAKI S, TAKATSUME Y, TANIMOTO S, TSUBOI H, NISHIMURA A, YODA K, ISHIKAWA T, IWASHITA K, FUJITA N, SHIMOI H (2011) Whole-Genome Sequencing of Sake Yeast *Saccharomyces cerevisiae* Kyokai no.7. *DNA Res.* **18** : 423-434

# Steps of Sake Yeast Studies

By

Atsumi NAKAZATO<sup>\*†</sup>

(Received November 27, 2015/Accepted December 4, 2015)

**Summary** : Yeast is a very important microorganism in human life, especially *Saccharomyces* species. *Sacchromyces cerevisiae* is used in various food industries. Sake yeast, wine yeast, baker's yeasts and so on are contained within *S.cerevisiae*. So, sake yeast and other industrial yeasts have been considered the same biochemically or taxonomically.

But it was reported that sake yeast is distinguished from other industrial yeasts by Takeda in 1970. This was the first report that sake yeast has a different property from other industrial yeasts in biotin requirement.

Then, growth in potassium-deficient, growth in filtrate of koji-mold culture, aggregation with *Lactobacillus casei*, foaming high-foams in sake mash, difference in antigenic structure, formation of a high concentration of alcohol in sake-mash, viability in sake-mash, difference in life cycle (thallism), electric charge on the cell surface, chromosome length and left telomeric structure of chromosome VI, electrophoresis pattern of 36 kD protein and retention of 2  $\mu$  m DNA have been reported as characteristics of sake yeast. Additionally, genomic information of sake yeast was reported in 2011.

**Key words** : sake yeast, characteristics, distinction

---

\* Professor Emeritus, Tokyo University of Agriculture

† Corresponding author (E-mail : nakaatsu@cyber.ocn.ne.jp)