

令和元年度
清酒酵母・麴研究会
講演要旨集

日時 令和元年 10 月 15 日（火）

場所 北とぴあ 第 1 研修室

東京都北区王子 1 丁目 11 番 1 号

清酒酵母・麴研究会

プログラム

- 13:00～13:20 清酒酵母・麴研究会 総会
- 13:20～13:50 「麴菌群における比較ゲノム解析」
酒類総合研究所 成分解析研究部門 齊藤 亮太
- 13:50～14:20 「福島県オリジナル清酒酵母の育種開発と醸造特性」
福島県ハイテクプラザ 会津若松技術支援センター 中島 奈津子
- 14:20～14:50 「焼酎麴菌のクエン酸高生産機構」
鹿児島大学農学部 焼酎・発酵学教育研究センター 二神 泰基
- 14:50～15:10 ～休憩～
- 15:10～15:40 「出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* におけるゲノム工学技術の開発とその応用」
大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学専攻 杉山 峰崇
- 15:40～16:45 特別講演「清酒酵母の減数分裂組換え不全について」
日本醸造協会 下飯 仁
- 17:00～ 懇親会 （北とぴあ9階901会議室）

麴菌群における比較ゲノム解析

酒類総合研究所 成分解析研究部門 齊藤 亮太

【背景・目的】

麴菌(*Aspergillus oryzae*)は日本の伝統食品の製造で様々な特性を持つ菌株が使用されている。その特性は各麴菌のゲノム構造の違いに起因すると考えられているため、我々はこれまで麴菌群のゲノム構造の多様性について研究を行ってきた。例えば、麴菌 DNAchip を用いたゲノムアレイ解析による様々な由来の 55 菌株の系統解析を行った結果、麴菌群は少なくとも 13 の系統に分類され(図 1)、系統と産業用途には相関があることを明らかとした。しかし、ゲノムアレイ解析では配列の欠失や、RIB40 株(野性株)に無い配列の挿入等の具体的なゲノムの構造解明することは難しい。そこで麴菌群のゲノム 13 系統の中から、RIB40 株、酒・味噌系統 RIB128 株、新清酒系統 RIBOIS01 株、醤油系統 RIB915 株の 4 株のゲノムシーケンス解析を行った。その結果、各菌株には大・小様々な塩基の欠失や挿入があり、各菌株独自の遺伝子も多く存在することが判明し、各系統のゲノムの特徴を大まかに知ることが出来た。そこで本研究では、麴菌全体を網羅できる 13 系統の代表株のゲノムシーケンス解析を行い、麴菌群としてゲノム構造の違いをより理解することができると考えた。本発表では、13 系統株の比較ゲノム解析の概要と、解析例として二次代謝遺伝子クラスターの比較解析について報告する。

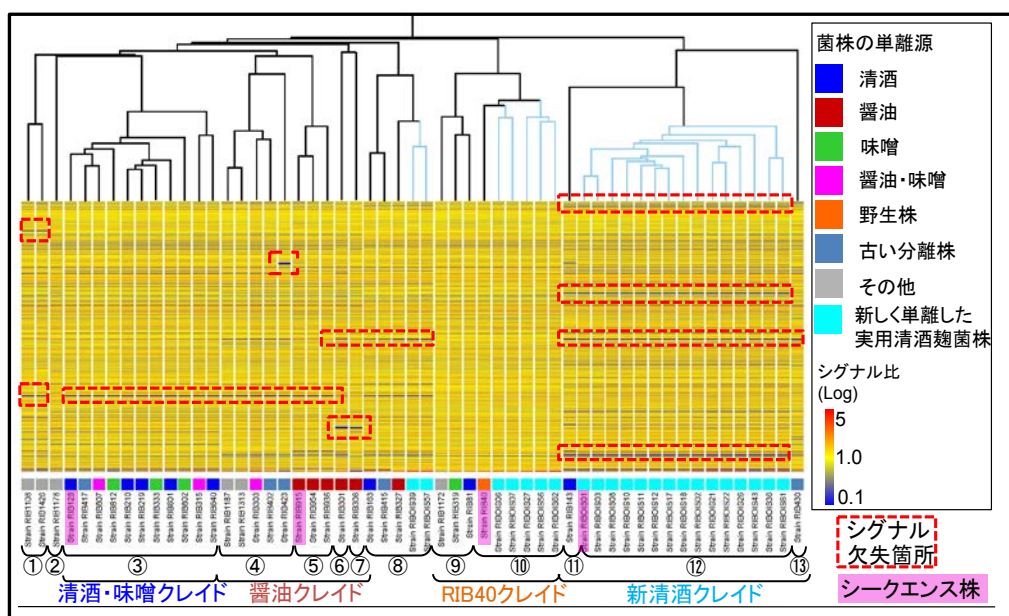


図 1. 麴菌 DNAchip を用いたゲノムアレイ解析結果

【方法】

ゲノム配列を取得していない 9 系統の代表株を、Illumina 社の HiSeqX に供しリードデータを取得した。その後、RIB40 株を参照配列としたマッピング解析を

行い SNP、小規模の欠失・挿入箇所及び大規模な欠失・挿入等の構造変異を検出した。de novo アセンブルからの遺伝子予測等の解析データを得た。また、RIB40 株に存在しない遺伝子を検出するために、マッピングされなかったリード配列をアセンブル後、得られた 500 bp 以上の配列に対し遺伝子予測を行った。

【結果】

麴菌群全体として変異がどのように存在しているのか解析を行った。RIB40 への mapping 解析結果を視覚化すると、全体的にテロメア近傍は変異が顕著であり、8 番染色体は他の染色体と比べると大規模な欠失が多く起こっていた。また、SNP 数や塩基配列の欠損は菌株ごとに大きく異なっていた。SNP については、系統的に RIB40 株に一番近い RIB1172 株では SNP が約 6 千箇所、一方 RIB143 株では約 18 万箇所存在し、この結果は系統樹を反映していた。構造変異については、全ての菌株に存在する 16 bp 以上の欠失、新規塩基配列の挿入や、染色体間組み換え等の構造変異は、合計約 6 千箇所にのぼった。以上の結果から、麴菌群のゲノム構造は多様であり、麴菌の進化上、染色体の欠失と挿入、染色体間組換えが高頻度に生じていることが示唆された。続いて、2 次代謝遺伝子クラスターを例として解析すると、菌株独自の遺伝子クラスターを見つけるため、RIB40 にマッピングされなかった配列中に backbone 遺伝子が存在するか探索した結果、0~8 個の backbone 遺伝子が確認され、これらの遺伝子は各株を特性づける因子の 1 つであると考えられた。続いて、アフラトキシン生産性については古くから研究されており、多様な研究によりいずれの株も生産性が無い事が確認されている。また、大半の菌株については、アフラトキシン合成遺伝子クラスターが欠失し(グループ 2,3)もしくは、*aflR*、*aflJ* の配列の変異が確認されている。しかし全クラスター領域のシーケンスは報告されていないことから、シーケンス解析の有用性について確認するために、遺伝子クラスターについて詳細な解析を行った。その結果、グループ 2 とされていた菌株群でも欠失領域長に違いが見られる他、これまでに知られている *aflR*、*aflJ* のプロモーター領域の変異以外にも、部分欠失など多くの変異が見られ、グループ 1 でも、*aflR*、*aflJ* の変異以外の要因で遺伝子クラスターが機能していないことを確認した。これらの結果から、麴菌のアフラトキシン非生産性は、ほとんどの株で複数の要因によって確保されていることが明らかとなった。

【まとめ】

麴菌 13 系統代表株の比較ゲノム解析の結果、大小様々な変異が確認され、麴菌株間でゲノム構造が大きく異なることが明らかとなった。2 次代謝遺伝子クラスターについて解析したところ、各菌株には特異的なクラスターが存在している可能性が示唆され、菌株によって 2 次代謝物生産性が異なることが推測された。また安全性の観点から、アフラトキシンクラスターを詳細に解析した結果、全ての菌株にアフラトキシンクラスターが機能しないことを確認した。

福島県オリジナル清酒酵母の育種開発と醸造特性

福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター 中島奈津子

1. 福島県産酒の現状と使用酵母について

福島県産酒は、蔵元・蔵人の努力と業界一丸となった様々な取り組みにより、全国新酒鑑評会をはじめとする各種鑑評会やコンテスト等でこれまで数多くの優秀な成績を修めています。そして、福島県の復興を牽引するシンボルとして、県民へ活力を与える存在となっています。県産酒の課税移出数量は平成23年の東日本大震災以降、微減傾向が続いていますが、特定名称酒の課税移出数量は増加傾向にあり、特に純米酒や純米吟醸酒が顕著に伸びています。福島県酒造組合のまとめによると、平成30年度課税移出数量における特定名称酒比率は69%まで増加し、震災以前（平成22年度）の約40%から大きな伸びを示しています。

また福島県では、ハイテクプラザにおいて優良酵母を培養し、県内酒造場へ頒布する酵母頒布事業を実施しています。県内酒造場への頒布本数はこの10年で2倍以上に増えており、特に、「うつくしま夢酵母」、「うつくしま煌（きらめき）酵母」を中心とした県酵母の頒布本数は全体数の8割以上を占め、純米酒や純米吟醸酒を中心とした特定名称酒に広く活用されています。

2. 福島県オリジナル清酒酵母の開発

福島県では、県内酒造場からのニーズと清酒の多様化に対応するため、様々な県オリジナル清酒酵母を育種してきました。まず、吟醸用酵母として平成3年に酢酸イソアミル系の「うつくしま夢酵母」を、続いて平成9年に県オリジナルの多酸酵母 52-5S-38 を育種しました。また、平成16年から新たにカプロン酸エチル系の吟醸用酵母の育種に着手し、平成20年に「うつくしま煌酵母」を取得しました。「うつくしま煌酵母」については、開発当初は醸造アルコール使用の吟醸酒を中心に使用されていたものの、純米酒や純米吟醸酒の伸びが顕著になり、純米での使用が増えた際、酸が高いという酵母の特徴によってもろみや製成酒のバランスを欠く事例が見られました。業界から改良のニーズが高まったこともあり、低酸化と香味バランスの改善を目的とした改良に取り組み、平成28年には改良版酵母の取得に成功しています。

今後も、県内酒造場が時代に合わせた多様な酒造りを行うための支援の一環として、県オリジナル清酒酵母の育種・開発を進めていきます。

3. 「福島県オリジナル清酒」製造に向けて

福島県では、県オリジナルの酒造好適米「夢の香（ゆめのかおり）」が県内一円で栽培されています。県内酒造場においても、夢の香を中心とした県産酒造好適米と県オリジナル酵母を用いた「福島県オリジナル清酒」が製造されていますが、

酵母や米の選択肢が多い分、使用酵母の選定に迷う事例、地域によって発酵経過が異なる事例などがあり、今後品質を安定させ、発展させていくためには、使用酵母の発酵特性や米との相性に関する情報を整理し、県内酒造場で活用してもらうことが必要と考えました。

そこで、平成29年から現在まで、県産資源（米、水、酵母）を使用した県オリジナル清酒の高品質化に向けた取り組みを行っています。この中で、県酵母の発酵特性試験と香味特性の分析、県産酒造好適米の特性分析、酵母と原料米の相性に関する発酵特性試験と香味特性に関する分析を実施し、最適な醸造法の確立を目指しています。

酵母については、県酵母を中心に、県内酒造場が使用する酵母17種類について糖資化性・発酵性試験を実施しました。BCPを含みpH依存的に培地が変色する単一炭素源（グルコース、マルトース、イソマルトオリゴ糖、ガラクトース）培地を用い、嫌気条件下でのガス発生と培地の変色を観察することによって、酵母ごとの糖の資化性・発酵性の特徴を明らかにしました。この結果、製造場では使用酵母に合わせた適切な種麴の選定や品温管理が行われるようになっていきます。

また、酵母17種類と県産酒造好適米4種類を組み合わせた68種の小仕込み試験を実施し、発酵中の炭酸ガス発生量、製成酒の分析を行いました。その結果、酵母と米の組み合わせにより炭酸ガス発生傾向が異なること、また製成酒の有機酸の組成に特徴が見られることがわかりました。これらの情報を整理し、県内酒造場へ情報提供を行うことで目標とする酒質を実現するための一助となることが期待されます。

4. 今後の予定

県酵母については、昨年までに9種類の菌株について全ゲノム解析を実施し、変異箇所同定の同定を行いました。これを踏まえ、現在は糖資化性・発酵性の結果との関連部位、また小仕込み試験によって得られた香味特性との関連部位の探索に取り組んでいます。

そして、福島県は県内酒造場の原料水硬度が1未満～5程度と幅広いことが特徴です。水の硬度が異なる酒造場において、同じ酵母を使っても発酵経過が異なり、オフフレーバーがついたり、想定した酒質が得られなかったりする事例が見られます。これを解決するため、県内全酒造場の原料水硬度ならびに組成分析を行い、それを元に水と酵母の相性や発酵特性に関する詳細な試験を実施する予定です。

多様な県オリジナル酵母から蔵の環境や水に合わせて酵母を選択し、求める酒質を実現していくための指針となるような情報の提供に努めていきます。

チーム福島はさらなる高みを目指します。

福島県産酒への応援を引き続きよろしく願いいたします。

焼酎麹菌のクエン酸高生産機構

鹿児島大学 農学部

附属焼酎・発酵学教育研究センター

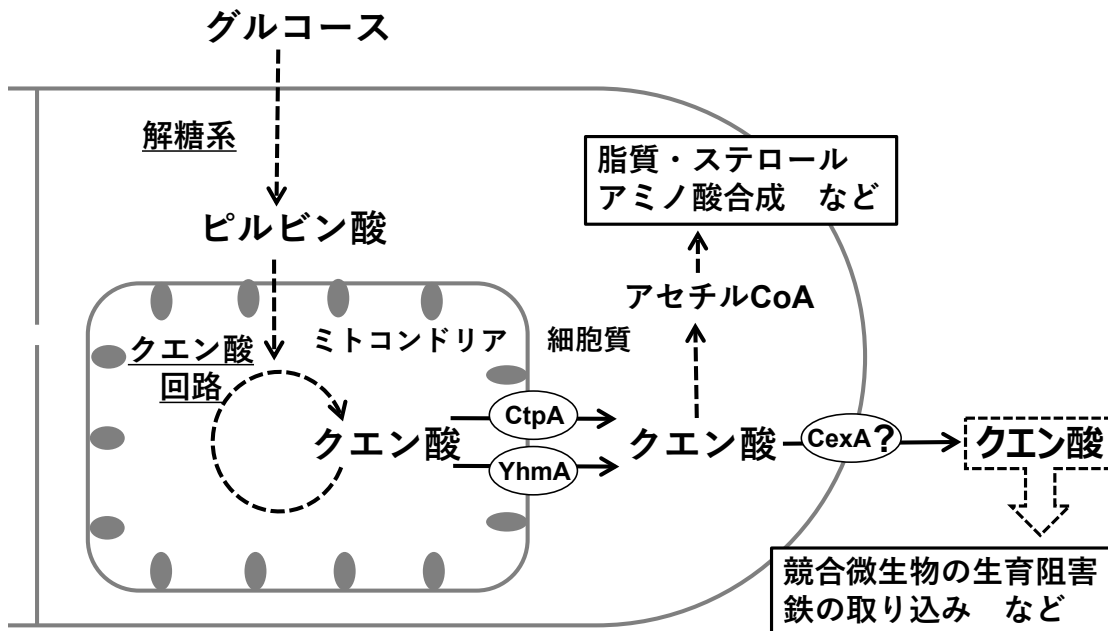
二神 泰基

焼酎の製造に用いられる白麹菌 (*Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii*) は、菌体外に多量のクエン酸を分泌生産する性質をもつ。クエン酸には、もろみの pH を下げることにより雑菌汚染を防ぐという重要な役割がある。これは清酒、味噌、醤油などの製造に用いられる黄麹菌 (*Aspergillus oryzae*) にはない、白麹菌ならではの特徴である。我々の研究グループでは、白麹菌のクエン酸高生産機構の全容解明に取り組んでいる。

どのようなメカニズムで、白麹菌はクエン酸を高分泌生産するのだろうか？クエン酸はミトコンドリア内で進行するクエン酸回路の中間代謝物として生成され、細胞質、細胞外へと排出される。クエン酸を高生産するには、効率的なクエン酸の排出が重要であると代謝フラックス解析から指摘されていたが、クエン酸輸送体に関する研究は行われていなかった。そこで我々は、白麹菌において、まずミトコンドリア内から細胞質にクエン酸を排出する CtpA と YhmA を解析した¹⁾。ctpA と yhmA の二重破壊は合成致死となることが示唆され、これらのクエン酸輸送体により細胞質に排出されたクエン酸は、アセチル CoA 合成の出発物質としてはたらくという重要な生理的役割があることを明らかにした。次に、細胞質から菌体外にクエン酸を排出する輸送体として CexA の解析を行った。黄麹菌において白麹菌の cexA を強制的に高発現させると、白麹菌と同等のクエン酸生産能力を獲得したことから、CexA は麹菌のクエン酸生産能力を決定付ける因子であると考えている。

白麹菌はクエン酸を常に高分泌生産するわけではなく、鉄欠乏などの特定の条件下で行う。そこで、クエン酸生産を制御する機構の解明に取り組んだ²⁾。糸状菌において二次代謝のマスターレギュレーターとして知られる推定メチルトランスフェラーゼ LaeA をコードする遺伝子を破壊すると、クエン酸高生産能を消失した。LaeA はヒストンのメチル化レベルを制御することでエピジェネテックに遺伝子発現を制御すると考えられている。トランスクリプトーム解析を行ったところ、laeA 破壊により 590 遺伝子の発現が上昇し、658 遺伝子の発現が減少したことが示唆された。また、発現減少遺伝子の中に cexA が含まれていた。そこで、laeA 破壊株において、cexA を恒常的にはたらくプロモーターの制御下で強制発現させた結果、クエン酸生産能が顕著に回復した。さらに、抗メチル化ヒストン抗体を用いたクロマチン免疫沈降と定量 PCR により解析した

結果、*laeA* 破壊株は *cexA* プロモーター周辺においてユークロマチン(転写活性の高い領域)の指標となるヒストン H3K4me3 の占有率が減少し、ヘテロクロマチン(転写活性の低い領域)の指標となるヒストン H3K9me3 の占有率が増加していた。これらの結果により、LaeA は *cexA* のプロモーターのクロマチン構造変換に関与しており、*cexA* の発現を介してクエン酸生産を制御することが示唆された。



白麹菌のクエン酸生産および排出経路の概略図

参考文献

- ¹ Kadooka, C. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 85, e03136-18 (2019).
- ² Kadooka, C. *et al.*, *bioRxiv*, 748426 (2019).

20 世紀後半に確立された組換え DNA 技術が、遺伝子の操作を通して生命を工学することを飛躍的に加速したのは周知のごとくである。しかし、遺伝子を操作する時代からゲノムを操作する時代へと移りつつある今、生命を工学するための次世代基盤技術として、ゲノムを自在に操作・改変する技術が重要であると考え、産業上重要であり真核細胞のモデルでもある出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を材料にその開発に力を注いできた。

そのためのキーとなる技術として、PCR を利用してワンステップで出芽酵母の染色体を何度でも繰り返し分断できる「染色体の分断技術」(図 1) を確立した (Sugiyama *et al.*, 2005)。染色体の分断は、任意の部位で染色体を 2 つに切断するが、切断後もどちらも染色体として機能させる技術である。この技術は、染色体のサイズだけでなく多様な数や構造の染色体を持つ細胞を作り出せるので、基礎・応用の別を問わず、これまで困難であった「染色体レベルでの遺伝的基盤解析」や「ゲノムの安定性の解析」、「酵母を細胞工場とする YAC にクローン化された高等生物染色体の自在な加工・操作とバイオテクノロジーへの応用」などの幅広い利用を可能にした。さらに、「染色体の分断技術」は、染色体の分断と分断染色体の脱落を通じて、酵母が持つ遺伝子セットを自在に再構成し、様々な特性を有する細胞を導出することを可能としたことから、「ゲノムエボリューション」という微生物育種技術のフロンティアを開拓した (杉山峰崇, 2010)。

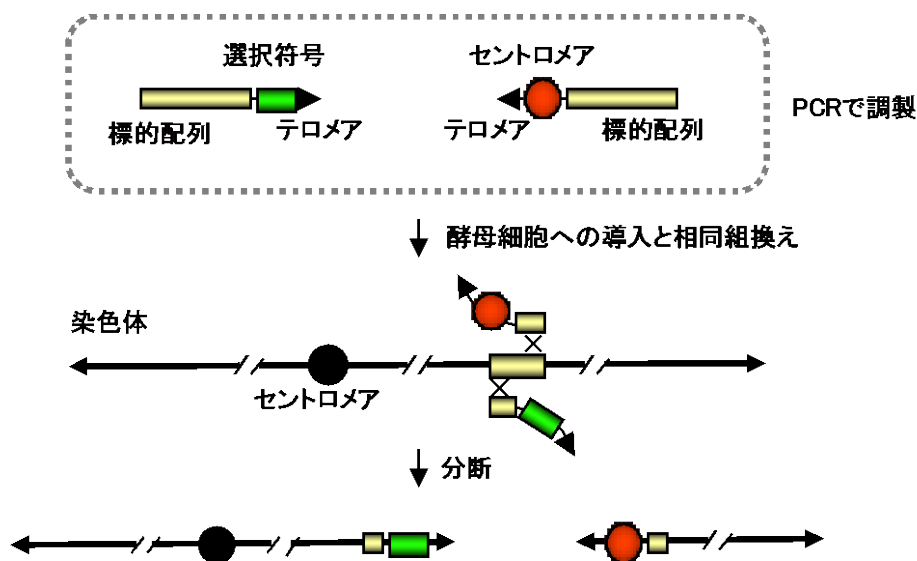


図 1. 染色体の分断技術

一方、「染色体の分断技術」を応用して、任意の染色体の大規模領域をワンステップで簡便に直接欠失させることが可能な「染色体の部分欠失技術」を開発し、ゲノムの可塑性解析などを可能にした (Sugiyama *et al.*, 2008)。また、任意の染色体領域をワンステップで簡便に重複させることが可能な「染色体の部分重複技術」も開発した (Natesuntorn *et al.*, 2015)。産業実用酵母は、標準株と比べて染色体が(部分)重複や(部分)欠失しており、このような染色体の大規模変化が特異な有用形質の発現に重要であることが報告されている。したがって、染色体の(部分)重複および(部分)欠失は、細胞の進化や分化を促進し、多様な特性を生み出す原動力と考えられる。そこで、任意ゲノム領域の染色体部分異数性が酵母の生育や産業的に重要な形質である高温ストレス、低温ストレス、酸ストレス耐性などの細胞生理へ及ぼす影響およびエタノール生産、有機酸生産などの発酵生産能力へ及ぼす影響について解析を行い、有用酵母の育種について検討を進めている。

本講演では、演者らのゲノム工学技術の開発に関するこれまでの取り組みやゲノム編集技術である CRISPR-Cas9 システムを取り入れた効率的な染色体の分断技術 (Sasano *et al.*, 2016)、および染色体の部分異数体化導入による酵母の形質改良 (Kaboli *et al.*, 2016) などについて紹介したい。

参考文献

- Sugiyama, M., Ikushima, S., Nakazawa, T., Kaneko, Y., Harashima, S.: PCR-mediated repeated chromosome splitting in *Saccharomyces cerevisiae*. *BioTechniques*, 38(6):909-914 (2005).
- Sugiyama, M., Nakazawa, T., Murakami, K., Sumiya, T., Nakamura, A., Kaneko, Y., Nishizawa, M., Harashima, S.: PCR-mediated one-step deletion of targeted chromosomal regions in haploid *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 80(3):545-553 (2008).
- 杉山峰崇: 出芽酵母におけるゲノム工学技術の開発と応用. *生物工学会誌*, 88(2):54-59 (2010).
- Natesuntorn, W., Iwami, K., Matsubara, Y., Sasano, Y., Sugiyama, M., Kaneko, Y., Harashima, S.: Genome-wide construction of a series of designed segmental aneuploids in *Saccharomyces cerevisiae*. *Scientific Reports*, 5:12510 (2015).
- Sasano, Y., Nagasawa, K., Kaboli, S., Sugiyama, M., Harashima, S.: CRISPR-PCS: a powerful new approach to inducing multiple chromosome splitting in *Saccharomyces cerevisiae*. *Scientific Reports*, 6:30278 (2016).
- Kaboli, S., Miyamoto, T., Sunada, K., Sasano, Y., Sugiyama, M., Harashima, S.: Improved stress resistance and ethanol production by segmental haploidization of the diploid genome in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biosci. Bioeng.*, 121(6):638-644 (2016).

清酒酵母の減数分裂組換え不全について

公益財団法人日本醸造協会
下飯 仁

1. はじめに

清酒酵母は出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* に属しており、基本的には孢子形成により一倍体を取得し、それらを接合させることで交配育種が可能である。しかし、現在使用されている清酒酵母の多くは孢子形成率が低く、まれに形成された孢子の発芽率も非常に低いことが、交配育種の問題点となっている。きょうかい7号(K7)の低孢子形成率について、中沢らは孢子形成の主要転写因子である *Ime1* の発現が孢子形成条件下でも低いことを見出し、*Ime1* の高発現により K7 の孢子形成率が上昇することを見出した(Nakazawa et al., JBB, 73, 265, 1992)。しかし、その場合も孢子の発芽率は回復しなかった。また、K7 では孢子形成条件下でも *Ime1* が低発現である原因として、孢子形成条件下で低発現となる *Cln3* が高発現のままであることが示されており(Nakazawa et al., JBB, 110, 1, 2010)、孢子形成条件下における栄養源欠乏のシグナル伝達に問題があることが示唆されている。筆者らは以前 K7 から多数の一倍体を取得しその性質を調べたが、得られた一倍体には異数体が多いことに気が付いた。異数体は減数分裂時の染色体の不分離によって生じるが、主な原因の一つが染色体の組換え不全である。出芽酵母の減数分裂組換え不全は孢子形成率を低下させ、まれに得られた孢子でも発芽率が低く異数体が多いこと知られている。これらのことから、筆者らは清酒酵母では減数分裂時の染色体組換えに問題があり、それが原因となって孢子形成率や発芽率が低下しているのではないかと考えた。

2. 減数分裂時の組換え不全の検証(Shimoi et al., JBB, 127, 190, 2019)

清酒酵母の減数分裂における染色体組換えについて以下の三つの方法で検討した。①K7一倍体 100 株について 3 番および 8 番染色体の 2 箇所のヘテロザイゴシティー間の分離の状況を調べる。②K7一倍体 4 株のゲノム DNA の塩基配列を次世代シーケンサーで解析し、ゲノムワイドな染色体組換えを観察する。③K6、K7、K9、K10 について、5 番染色体左腕の *CAN1* と *URA3* の間の組換えをダブルヘテロザイガス株(*CAN1/can1 URA3/ura3*)を用いて検証する。その結果、①一倍体 100 株で 3 番および 8 番染色体の組換えは全く認められなかった。②K7一倍体 4 株のゲノム DNA は、全染色体について K7 の片方の染色体に由来しており、組換え型は認められなかった。③K6、K7、K9、K10(K7 グループ)のいずれにおいても、孢子由来の一倍体の遺伝子型は両親型の遺伝子型しか見られず、組換え型は認められなかった。以上の結果は、K7 グループの清酒酵母においては減数分裂時の染色体組換えに異常があることを示している。K7 グループの菌株でもランダム孢子解析によって一倍体を得ることがで

きるが、異数体が多いこと、染色体の組換えが生じていないことに留意する必要がある。

3. 減数分裂時の組換え不全を相補する遺伝子のクローニング

清酒酵母の減数分裂染色体組換え不全の詳細を解析するために、組換え不全を相補する遺伝子のクローニングを試みた。K7 泡なし株の栄養要求性株である UT-1 (*ura3Δ/ura3Δ trp1Δ/trp1Δ*)を親株として *URA3* のマーカーリサイクル法により *CAN1* および *ADE2* をヘテロサイガスに遺伝子破壊し、さらに *TRP1* をマーカーとして *HIS3* をヘテロサイガスに遺伝子破壊した。作成した株の中から、*ade2* と *his3* がシスの関係にある株 (UTCAH-3) を選択して、実験室酵母の YCp 型プラスミドゲノムライブラリを形質転換した。ウラシル欠培地で選択した形質転換体をレプリカして孢子形成させた後、孢子に由来する一倍体を選抜するため *canavanine* および *5-fluoroanthranilic acid* を含み、ヒスチジンを含まない選択培地で培養した。*ADE2* と *HIS3* は共に 15 番染色体にあるため、染色体組換えがない場合、選択培地で生育する株は *can1 trp1 ADE2 HIS3* であり、すべて白コロニーとなる。一方、染色体組換えが生じた場合、組換え体である *can1 trp1 ade2Δ HIS3* も増殖するため赤コロニーも生じることになる。

ゲノムライブラリによる形質転換体約 1 万株を孢子形成させた後、選択培地で増殖させた結果、組換え一倍体の可能性のある赤色のコロニーを1株取得した。この株からプラスミドを抽出し、UTCAH-3 を再形質転換したところ、孢子形成後に高い頻度で赤コロニーを生じ、四分子解析による孢子発芽率も向上した。このプラスミドの中には減数分裂組換え時の染色体二重鎖切断をおこなう酵素をコードする *SPO11* が含まれていた。実験室酵母の *SPO11* で UTCAH-3 を形質転換すると、減数分裂染色体組換えと孢子発芽能が回復したが、K7 の *SPO11* を形質転換しても、減数分裂染色体組換えと孢子発芽能は回復しなかった。また、*K7SPO11* は、実験室酵母の *spo11Δ/spo11Δ* の低孢子形成能や低孢子発芽率を回復させることができなかった。以上の結果から、K7 では *Spo11* が機能していず、これが染色体組換え不全と低孢子発芽能の原因であると考えられた。

なお、*SPO11* によって K7 の孢子発芽率は大きく上昇するが、孢子形成率の増加はそれほど大きくない。これは、*SPO11* 以外に栄養欠乏のシグナル伝達系に問題があることを示している。K7 グループの酵母は栄養欠乏のシグナル伝達系の *RIM15* が機能不全であり、その結果、発酵力は高いがストレス感受性であることが知られている。*RIM15* の機能欠損は孢子形成率の低下をもたらすことが知られているので、K7 に対する *RIM15* 導入の効果を調べたところ、*RIM15* によって孢子形成率は大きく回復するが、孢子発芽率の向上は認められなかった。また、*SPO11* と *RIM15* の相乗効果も認められなかった。