

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6967968号  
(P6967968)

(45) 発行日 令和3年11月17日(2021.11.17)

(24) 登録日 令和3年10月28日(2021.10.28)

(51) Int.Cl.	F I
C 1 2 N 1/18 (2006.01)	C 1 2 N 1/18 Z N A
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19
C 1 2 C 11/02 (2006.01)	C 1 2 C 11/02
C 1 2 G 3/02 (2019.01)	C 1 2 G 3/02
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/09 Z

請求項の数 21 (全 107 頁)

(21) 出願番号	特願2017-533846 (P2017-533846)	(73) 特許権者	511133794
(86) (22) 出願日	平成27年12月22日 (2015.12.22)		カールスベア ブリュアーリーズ アー/ エス
(65) 公表番号	特表2018-500034 (P2018-500034A)		デンマーク国 1 7 9 9 コペンハーゲン ヴェー, ジェイ. シー. ヤコブセン
(43) 公表日	平成30年1月11日 (2018.1.11)		ゲーゼ 1
(86) 国際出願番号	PCT/DK2015/050413	(74) 代理人	100078282
(87) 国際公開番号	W02016/101960		弁理士 山本 秀策
(87) 国際公開日	平成28年6月30日 (2016.6.30)	(74) 代理人	100113413
審査請求日	平成30年12月19日 (2018.12.19)		弁理士 森下 夏樹
(31) 優先権主張番号	PA201470825	(74) 代理人	100181674
(32) 優先日	平成26年12月23日 (2014.12.23)		弁理士 飯田 貴敏
(33) 優先権主張国・地域又は機関	デンマーク (DK)	(74) 代理人	100181641
(31) 優先権主張番号	PA201570351		弁理士 石川 大輔
(32) 優先日	平成27年6月8日 (2015.6.8)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	デンマーク (DK)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アルコール飲料を調製するための酵母

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の特性および遺伝子型を有する酵母細胞:

特性 I I . パノースを唯一の炭素源として資化することができ、以下の遺伝子型を有する、

遺伝子型 I V : I M A 1 p をコードする少なくとも3つの遺伝子を含み、I M A 1 p をコードする前記少なくとも3つの遺伝子が、個別に、配列番号12のI M A 1 p、配列番号13のI M A 1 p、配列番号14のI M A 1 p、配列番号15のI M A 1 p、配列番号21のI M A 1 p、配列番号22のI M A 1 p、配列番号23のI M A 1 p、配列番号24のI M A 1 p、配列番号25のI M A 1 p、及び、少なくとも90%の配列同一性を上記配列と共有し、I M A 1 p と生物学的機能を共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される、および

遺伝子型 V I : A G T 1 をコードする少なくとも2つの遺伝子を含み、A G T 1 をコードする前記少なくとも2つの遺伝子が、個別に、配列番号18のA G T 1、配列番号19のA G T 1、配列番号20のA G T 1、配列番号26のA G T 1、配列番号27のA G T 1、配列番号28のA G T 1、配列番号29のA G T 1、配列番号30のA G T 1、配列番号31のA G T 1、配列番号32のA G T 1、及び少なくとも90%の配列同一性を上記配列と共有し、A G T 1 と生物学的機能を共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される、ならびに

特性 V I I I . メリビオースを唯一の炭素源として資化することができる。

## 【請求項 2】

前記酵母細胞が、  
 特性 I : イソマルトースを唯一の炭素源として資化することができる、  
 という特性をさらに有する、請求項 1 に記載の酵母細胞。

## 【請求項 3】

前記酵母細胞が、前記パノースが、1 ~ 5 g/L の範囲内の濃度で存在している場合に、パノースを唯一の炭素源として資化することができる、請求項 1 に記載の酵母細胞。

## 【請求項 4】

前記酵母細胞が、  
 特性 I I I : 1 つ以上のジペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる、  
 という特性をさらに有する、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。 10

## 【請求項 5】

前記ジペプチドが、Met - Tyr、Leu - Tyr、Val - Met、Phe - Tyr、Ile - Leu、Ile - Asn、Gly - Arg、Lys - Tyr、Met - Lys、Val - Ala、Val - Asn、Val - Gly、Val - Gln、Val - Ser または Ala - Xaa からなる群から選択され、Xaa が任意のアミノ酸である、請求項 4 に記載の酵母細胞。

## 【請求項 6】

前記酵母細胞が、  
 特性 I V : 1 つ以上のトリペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる、  
 という特性をさらに有する、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。 20

## 【請求項 7】

前記酵母細胞が、  
 特性 V : 5 日間、前記酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後、1 つ以上のアミノ酸のレベルを出発濃度の 10 % を超えないレベルにまで下げることができる、  
 という特性をさらに有する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

## 【請求項 8】

前記酵母細胞が、  
 特性 V I : 前記酵母細胞が少なくとも 10 度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、ジアセチルが所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、プラート度当たり、少なくとも 4.7 プロミルのエタノールを生成することができる、  
 という特性をさらに有する、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。 30

## 【請求項 9】

前記酵母細胞が、  
 特性 V I I : 前記酵母細胞が少なくとも 10 度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、ジアセチルが所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、少なくとも 68 の真正発酵度で糖を発酵させることができる、  
 という特性をさらに有する、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。 40

## 【請求項 10】

前記酵母細胞が特性 V I I を有し、特性 V I I が、前記酵母細胞がその親株の一つの株の真正発酵度 (RDF) より高い、少なくとも 1 の RDF で糖を発酵させることができることである、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

## 【請求項 11】

前記酵母細胞が、  
 特性 X : 前記酵母細胞が少なくとも 10 度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、4 日間インキュベーションされる場合に、多くとも 1,200 万個の細胞/ml が懸濁するように、沈降することができる、  
 という特性をさらに有する、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

## 【請求項 12】

50

前記酵母細胞が、  
 特性IX：イソマルトース、パノース、及び/または、メリピオースに加えて、1つ以上の二糖及び/または三糖を資化することができる、  
 という特性をさらに有する、請求項1～11のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【請求項13】

前記二糖が、コージピオース、ニゲロース、スクロース、ツラノース、ロイクロース、及び、パラチノースからなる群から選択される、請求項12に記載の酵母細胞。

【請求項14】

前記酵母細胞が、  
 特性XI：長くとも4日間、例えば、長くとも3日間の一次発酵で麦汁を発酵することができる、  
 という特性をさらに有する、請求項1～13のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【請求項15】

前記酵母細胞が、  
 遺伝子型I：DAL5をコードする遺伝子を含み、DAL5をコードする対立遺伝子が、配列番号6のDAL5、配列番号39のDAL5、配列番号40のDAL5、及び、少なくとも90%の配列同一性を上記配列と共有し、DAL5と生物学的機能を共有する、それらの機能的相同体からなる群から選択される、遺伝子型および/または

遺伝子型II：PTR2をコードする少なくとも2つの対立遺伝子を含み、PTR2をコードする前記少なくとも2つの対立遺伝子が、個別に、配列番号7のPTR2、配列番号8のPTR2、配列番号9のPRT2、配列番号37を含むPRT2、配列番号38のPRT2、配列番号43のPRT2、配列番号44のPRT2、及び少なくとも90%の配列同一性を上記配列と共有し、PTR2と生物学的機能を共有する、それらの各々の機能的相同体をコードする遺伝子からなる群から選択される、遺伝子型を有する、請求項1～14のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【請求項16】

前記酵母細胞が、  
 遺伝子型III：UBR1をコードする遺伝子を含む、  
 遺伝子型を有し、UBR1が、配列番号10を含むUBR1、配列番号11のUBR1、配列番号41を含むUBR1、配列番号42のUBR1、配列番号45を含むUBR1、及び、少なくとも90%の配列同一性を上記配列と共有し、UBR1と生物学的機能を共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される、請求項1～15のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【請求項17】

前記酵母細胞が、  
 遺伝子型IV：IMA1pをコードする少なくとも4つの遺伝子を含む、  
 遺伝子型を有し、前記IMA1pをコードする前記少なくとも4つの遺伝子が、個別に、配列番号12のIMA1p、配列番号13のIMA1p、配列番号14のIMA1p、配列番号15のIMA1p、配列番号21のIMA1p、配列番号22のIMA1p、配列番号23のIMA1p、配列番号24のIMA1p、配列番号25のIMA1p、及び、少なくとも90%の配列同一性を上記配列と共有し、IMA1pと生物学的機能を共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される、請求項1～16のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【請求項18】

前記酵母細胞が、  
 遺伝子型V：IMA5pをコードする遺伝子、好ましくはIMA5pをコードする少なくとも2つの対立遺伝子を含む、  
 遺伝子型を有し、IMA5pをコードする前記少なくとも2つの遺伝子が、個別に、配列番号16のIMA5p、配列番号17のIMA5p、配列番号34のIMA5p、配列番号35のIMA5p、配列番号36のIMA5p、及び、少なくとも90%の配列同一

性を上記配列と共有し、I M A 5 pと生物学的機能を共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される、請求項1～17のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【請求項19】

前記酵母細胞が、

遺伝子型VI：配列番号18のAGT1、配列番号19のAGT1、配列番号20のAGT1、配列番号26のAGT1、配列番号27のAGT1、配列番号28のAGT1、配列番号29のAGT1、配列番号30のAGT1、配列番号31のAGT1、配列番号32のAGT1、及び少なくとも90%の配列同一性を上記配列と共有し、AGT1と生物学的機能を共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択されるAGT1をコードする少なくとも3つの遺伝子を含む、

10

遺伝子型を有する、請求項1～18のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【請求項20】

飲料を製造するための方法であって、前記方法が、

- a. 出発液体を準備すること、
  - b. 請求項1～19のいずれか1項に記載の酵母細胞を準備すること、
  - c. 前記出発液体を、前記酵母細胞で発酵し、それにより、飲料を製造すること、
- のステップを含む、方法。

【請求項21】

前記出発液体が、大麦及び/または麦芽の水性エキスを含む、請求項20に記載の方法

20

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

アルコール飲料は、しばしば、酵母を用いた炭水化物を豊富に含む液体の発酵によって調製される。例えば、ビールは、酵母を用いて麦汁を発酵させることによって調製される。麦汁は、数多くの化合物を含有しており、それらは、酵母によって資化することができる。例えば、麦汁は、糖類、特に、マルトース、そして、同様に、アミノ酸と小ペプチド類を豊富に含んでいる。従来、酵母は、マルトースを資化することができ、そして、つまりは、従来、酵母は、マルトースを発酵させて、エタノールを産生することができる。しかしながら、麦汁は、マルトース以外にも、他の炭水化物を含んでおり、それらの幾つかは、従来、酵母、特に、ラガー酵母によって資化されることはない。

30

【0002】

一般的に、ラガー酵母は、幾つかの点において、エール酵母とは異なる。ラガー酵母は、*S. pastorianus*の種に属している。発酵の間に底に沈むため、ラガー酵母は、しばしば、「下面発酵酵母」とも呼ばれている。さらに、ラガー酵母株は、7～15の範囲の温度が、使用に最も適している。加えて、ラガー酵母は、メリピオースを唯一の炭素源として使用することができるが、37では成長できない。

【0003】

これに対して、エール酵母は、*S. cerevisiae*の種に属している。発酵の間に表面に向かって浮き上がることがよくあるため、エール酵母は、しばしば、「上面発酵酵母」とも呼ばれている。さらに、エール酵母株は、10～25の範囲の温度が、使用に最も適しているが、幾つかの株は、12を下回ると活発に発酵しなくなってしまう。加えて、エール酵母は、メリピオースを唯一の炭素源として使用することができず、また、37で成長できる。

40

【0004】

その他の酵母、例えば、*Saccharomyces diastaticus*も、ビール醸造に使用することができる。*Saccharomyces diastaticus*は、*Saccharomyces cerevisiae*種の*diastaticus*亜種(var.)に属しており、及び、デンプンを唯一の炭素源として酵母が利用できるようにする以下の遺伝子、SLA1、STA2またはSTA3の少なくとも1つでコードさ

50

れたグルコアミラーゼ酵素活性の特性を有している。一般的に、S L A 遺伝子は、S . c e r e v i s i a e または S . p a s t o r i a n u s または解析をした他の S a c c h a r o m y c e s 種の株では認められないが、S . c e r e v i s i a e のサブグループである亜種の d i a s t a t i c u s では存在している。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

ラガービール(例えば、S . p a s t o r i a n u s )ならびにエール酵母(例えば、S . c e r e v i s i a e )の双方の特性を兼ね備えた改善された酵母株が必要とされている。加えて、可能な限り多くの異なるエネルギー源を利用することができる酵母株も必要とされている。特に、麦汁に含まれるマルトース以外の糖類を資化することができる酵母、及び、アミノ酸及びペプチド類を旺盛に資化することができる酵母が必要とされている。

10

【0006】

興味深いことに、本願発明は、ラガー酵母の幾つかの重要な特性を有しつつ、同時に、麦汁に含まれる多くの異なるエネルギー源を利用することができるハイブリッド酵母を提供する。

【0007】

したがって、少なくとも1つの以下の特性、

I . イソマルトースを唯一の炭素源として資化することができる、

II . パノースを唯一の炭素源として資化することができる、

を有する酵母細胞を提供することが、本願発明の態様である。

20

【0008】

上記の特性I及びIIに加えて、本願発明の酵母細胞は、別の特性、例えば、1つ以上の以下の特性、

III . 1つ以上のジペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる、

IV . 1つ以上のトリペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる、

V . 5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、1つ以上のアミノ酸のレベルを、出発濃度の10%を超えないレベルにまで下げることができる、

30

VI . 当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、ジアセチルが、所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、プラート当たり、少なくとも4.7プロミルのエタノールを生成することができる、及び/または、

VII . 当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、ジアセチルが、所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、少なくとも真正発酵度70で糖を発酵させることができる、

を有することができる。

【0009】

以下のうち少なくとも1つの特性、

II . パノースを唯一の炭素源として資化することができる、

III . 1つ以上のジペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる、

を有する酵母細胞を提供することも、本願発明の態様である。

40

【0010】

以下の特性、

II . パノースを唯一の炭素源として資化することができる、

を有する酵母細胞を提供することも、本願発明の態様である。

【0011】

上記の特性II及び/またはIIIに加えて、本願発明の酵母細胞は、さらなる特性、例えば、以下のうち1つ以上の特性、

50

- I . イソマルトースを唯一の炭素源として資化することができる、
- IV . 1つ以上のトリペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる、
- V . 5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、1つ以上のアミノ酸のレベルを、出発濃度の10%を超えないレベルまで下げることができる、
- VI . 当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラウト糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、ジアセチルが、所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、プラウト当たり、少なくとも4.7プロミルのエタノールを生成することができる、及び/または、
- VII . 当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラウト糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、ジアセチルが、所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、少なくとも真正発酵度70で糖を発酵させることができる、
- を有することができる。

10

## 【0012】

飲料を製造するための方法であって、当該方法が、

- I . 出発液体を準備すること、
- II . 本願発明の酵母細胞を準備すること、
- III . 当該出発液体を、当該酵母細胞で発酵させること、
- のステップを含む方法を提供することも本願発明の態様である。
- 本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

20

## (項目1)

少なくとも1つの以下の特性を有する酵母細胞：

- II . パノースを唯一の炭素源として資化することができる、
- III . 1つ以上のジペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる。

## (項目2)

前記酵母細胞が、

- I . イソマルトースを唯一の炭素源として資化することができる、
- という特性をさらに有する、先行項目のいずれか1項に記載の酵母細胞。

## (項目3)

前記酵母細胞が、前記パノースが、1～5g/Lの範囲内、1～3g/Lの範囲など、例えば、2g/Lの濃度で存在している場合に、パノースを唯一の炭素源として資化することができる、先行項目のいずれか1項に記載の酵母細胞。

30

## (項目4)

前記酵母細胞が、麦汁に含まれるパノースの少なくとも45%を除去することができる、先行項目のいずれか1項に記載の酵母細胞。

## (項目5)

前記酵母細胞が、

- III . 1つ以上のジペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる、
- という特性をさらに有する、先行項目のいずれか1項に記載の酵母細胞。

## (項目6)

前記酵母細胞が、さらにアラントインを唯一の窒素源として資化することができる、先行項目のいずれか1項に記載の酵母細胞。

40

## (項目7)

前記酵母細胞が、

- IV . 1つ以上のトリペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる、
- という特性をさらに有する、先行項目のいずれか1項に記載の酵母細胞。

## (項目8)

前記酵母細胞が、

V . 5日間、前記酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、1つ以上のアミノ酸のレベルを出発濃度の10%を超えないレベルにまで下げることが

50

できる、

という特性をさらに有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 9)

前記酵母細胞が、

V I . 前記酵母細胞が少なくとも 1 0 度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、ジアセチルが所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、プラート度当たり、少なくとも 4 . 7 プロミルのエタノールを生成することができる、

という特性をさらに有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 1 0)

前記酵母細胞が、

V I I . 前記酵母細胞が少なくとも 1 0 度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、ジアセチルが所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、少なくとも 7 0 など、少なくとも 6 8 の真正発酵度で糖を発酵させることができる、

という特性をさらに有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 1 1)

前記酵母細胞が特性 V I I を有し、特性 V I I が、その親株の一つの株の R D F より高い、少なくとも 2 など、少なくとも 1 の R D F で糖を発酵させることができる、という特性を有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 1 2)

前記酵母細胞が、

V I I I . メリビオースを唯一の炭素源として資化することができる、

という特性をさらに有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 1 3)

前記酵母細胞が、

X . 前記酵母細胞が少なくとも 1 0 度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、4 日間インキュベーションされる場合に、多くとも 1 , 0 0 0 万個の細胞 / m l など、多くとも 1 , 2 0 0 万個の細胞 / m l が懸濁するように、沈降できるようにする、

という特性をさらに有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 1 4)

懸濁液での前記細胞数 / m l が、前記細胞の成長が許容される条件下で 5 日間のインキュベーションを行った後、出発細胞数 / m l の多くとも 8 0 %、多くとも 7 0 % など、例えば、多くとも 6 0 %、多くとも 5 0 % など、例えば、多くとも 4 0 % である、項目 1 3 に記載の酵母細胞。

(項目 1 5)

前記酵母細胞が、

I X . イソマルトース、パノース、及び/または、メリビオースに加えて、1 つ以上の二糖及び/または三糖を資化することができる、

という特性をさらに有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 1 6)

前記二糖が、コージピオース、ニゲロース、スクロース、ツラノース、ロイクロース、及び、パラチノースからなる群から選択される、項目 1 5 に記載の酵母細胞。

(項目 1 7)

前記二糖が、コージピオースである、項目 1 5 に記載の酵母細胞。

(項目 1 8)

前記二糖が、マルツロースである、項目 1 5 に記載の酵母細胞。

(項目 1 9)

前記酵母細胞が、

X I . 長くとも 4 日間、例えば、長くとも 3 日間の一次発酵で麦汁を発酵することができる、

10

20

30

40

50

という特性をさらに有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 20)

前記酵母細胞が、

I . D A L 5 をコードする遺伝子を含む、

遺伝子型を有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 21)

前記遺伝子型 I が、前記酵母細胞が、D A L 5 をコードする少なくとも 1 つの対立遺伝子を含むことであって、D A L 5 をコードする前記対立遺伝子が、配列番号 6 の D A L 5、配列番号 39 の D A L 5、配列番号 40 の D A L 5、及び、少なくとも 80 %、好ましくは少なくとも 90 %、さらにより好ましくは少なくとも 95 %、少なくとも 98 % などの配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される D A L 5 をコードする、項目 20 に記載の酵母細胞。

10

(項目 22)

前記酵母細胞が、

I I . P T R 2 をコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子を含む、

遺伝子型を有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 23)

前記遺伝子型 I I が、前記酵母細胞が P T R 2 をコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子を含むことであって、それらが個別に、配列番号 7 の P T R 2、配列番号 8 の P T R 2、配列番号 9 の P R T 2、配列番号 37 を含む P R T 2、配列番号 38 の P R T 2、配列番号 43 の P R T 2、配列番号 44 の P R T 2、及び少なくとも 80 %、好ましくは少なくとも 90 %、さらにより好ましくは少なくとも 95 %、少なくとも 98 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらの各々の機能的相同体をコードする遺伝子からなる群から選択される、項目 22 に記載の酵母細胞。

20

(項目 24)

前記酵母細胞が、

I I I . U B R 1 をコードする遺伝子を含む、

遺伝子型を有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 25)

前記遺伝子型 I I I が、前記酵母細胞が U B R 1 をコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子を含むことであって、それらが個別に、配列番号 10 を含む U B R 1、配列番号 11 の U B R 1、配列番号 41 を含む U B R 1、配列番号 42 の U B R 1、配列番号 45 を含む U B R 1、及び、少なくとも 80 %、好ましくは少なくとも 90 %、さらにより好ましくは少なくとも 95 %、少なくとも 98 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される、項目 24 に記載の酵母細胞。

30

(項目 26)

前記酵母細胞が、

I V . I M A 1 p をコードする少なくとも 4 つなどの少なくとも 3 つの遺伝子を含む、

遺伝子型を有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

40

(項目 27)

I V . I M A 1 p をコードする少なくとも 4 つなどの少なくとも 3 つの遺伝子を含む、

遺伝子型を有する酵母細胞。

(項目 28)

前記 I M A 1 p が、配列番号 12 の I M A 1 p、配列番号 13 の I M A 1 p、配列番号 14 の I M A 1 p、配列番号 15 の I M A 1 p、配列番号 21 の I M A 1 p、配列番号 22 の I M A 1 p、配列番号 23 の I M A 1 p、配列番号 24 の I M A 1 p、配列番号 25 の I M A 1 p、及び、少なくとも 80 %、好ましくは少なくとも 90 %、さらにより好ましくは少なくとも 95 %、少なくとも 98 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、

50

それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される、項目 26 及び 27 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 29)

前記遺伝子型 I V が、前記酵母細胞が I M A 1 p をコードする少なくとも 5 つの遺伝子を含むことであって、前記遺伝子が個別に、配列番号 1 の I M A 1 p、配列番号 2 の I M A 1 p、配列番号 3 の I M A 1 p、配列番号 4 の I M A 1 p、配列番号 5 の I M A 1 p、配列番号 12 の I M A 1 p、配列番号 13 の I M A 1 p、配列番号 14 の I M A 1 p、配列番号 15 の I M A 1 p、配列番号 21 の I M A 1 p、配列番号 22 の I M A 1 p、配列番号 23 の I M A 1 p、配列番号 24 の I M A 1 p、配列番号 25 の I M A 1 p、及び、配列番号 33 の I M A 1 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体をコードする遺伝子からなる群から選択される、項目 26 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

10

(項目 30)

前記遺伝子型 I V が、前記酵母細胞が、I M A 1 の少なくとも 3 つの短い対立遺伝子と I M A 1 の少なくとも 2 つの長い対立遺伝子とを含むことであって、

a) 前記 I M A 1 の 3 つの短い対立遺伝子が個別に、配列番号 12 の I M A 1 p、配列番号 13 の I M A 1 p、配列番号 1 の I M A 1 p、配列番号 2 の I M A 1 p、配列番号 3 の I M A 1 p、配列番号 4 の I M A 1 p、配列番号 5 の I M A 1 p、及び、配列番号 33 の I M A 1 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される I M A 1 p をコードする遺伝子であり、及び、

20

b) 前記 I M A 1 の 2 つの長い対立遺伝子が個別に、配列番号 14 の I M A 1 p、配列番号 15 の I M A 1 p、配列番号 21 の I M A 1 p、配列番号 22 の I M A 1 p、配列番号 23 の I M A 1 p、配列番号 24 の I M A 1 p、配列番号 25 の I M A 1 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される I M A 1 p をコードする遺伝子である、

項目 26 ~ 29 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

30

(項目 31)

前記酵母細胞が、

V . I M A 5 p をコードする遺伝子、好ましくは I M A 5 p をコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子を含む、

遺伝子型を有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

(項目 32)

I M A 5 p が、配列番号 16 の I M A 5 p、配列番号 17 の I M A 5 p、配列番号 34 の I M A 5 p、配列番号 35 の I M A 5 p、配列番号 36 の I M A 5 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される、項目 31 に記載の酵母細胞。

40

(項目 33)

前記酵母細胞が、

V I . 配列番号 18 の A G T 1、配列番号 19 の A G T 1、配列番号 20 の A G T 1、配列番号 26 の A G T 1、配列番号 27 の A G T 1、配列番号 28 の A G T 1、配列番号 29 の A G T 1、配列番号 30 の A G T 1、配列番号 31 の A G T 1、配列番号 32 の A G T 1、及び少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される A G T 1 をコードする少なくとも 3 つの遺伝子を含む、

50

遺伝子型を有する、先行項目のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

( 項目 3 4 )

飲料を製造するための方法であって、前記方法が、

a. 出発液体を準備すること、

b. 項目 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞を準備すること、

c. 前記出発液体を、前記酵母細胞で発酵し、それにより、飲料を製造すること、  
のステップを含む、方法。

( 項目 3 5 )

前記出発液体が、大麦及び/または麦芽の水溶性エキスを含む、項目 3 4 に記載の方法。

【図面の簡単な説明】

10

【 0 0 1 3 】

【図 1 - 1】2 g / L のパノースを唯一の炭素源として含む規定の培地における様々な酵母株の成長を示す図である。そこで示したデータは、生物学的複製物の典型例である。パネル A) は、エール酵母 1、ハイブリッド酵母 1、ハイブリッド酵母 4 及びラガー酵母 1 の成長を示す。パネル B) は、エール酵母 1、ハイブリッド酵母 7 及びラガー酵母 2 の成長を示す。パネル C) は、*S. diastaticus* 及びハイブリッド酵母 8 の成長を示す。

【図 1 - 2】2 g / L のパノースを唯一の炭素源として含む規定の培地における様々な酵母株の成長を示す図である。そこで示したデータは、生物学的複製物の典型例である。パネル A) は、エール酵母 1、ハイブリッド酵母 1、ハイブリッド酵母 4 及びラガー酵母 1 の成長を示す。パネル B) は、エール酵母 1、ハイブリッド酵母 7 及びラガー酵母 2 の成長を示す。パネル C) は、*S. diastaticus* 及びハイブリッド酵母 8 の成長を示す。

20

【図 2 - 1】2 g / L のイソマルトースを唯一の炭素源として含む規定の培地における酵母の成長を示す図である。そこで示したデータは、生物学的複製物の典型例である。パネル A) は、エール酵母 1、ハイブリッド酵母 1、ハイブリッド酵母 4 及びラガー酵母 2 の成長を示す。パネル B) は、エール酵母 1、ハイブリッド酵母 7 及びラガー酵母 1 の成長を示す。パネル C) は、*S. diastaticus* 及びハイブリッド酵母 8 の成長を示す。

【図 2 - 2】2 g / L のイソマルトースを唯一の炭素源として含む規定の培地における酵母の成長を示す図である。そこで示したデータは、生物学的複製物の典型例である。パネル A) は、エール酵母 1、ハイブリッド酵母 1、ハイブリッド酵母 4 及びラガー酵母 2 の成長を示す。パネル B) は、エール酵母 1、ハイブリッド酵母 7 及びラガー酵母 1 の成長を示す。パネル C) は、*S. diastaticus* 及びハイブリッド酵母 8 の成長を示す。

30

【図 3】2 g / L のメリビオースを唯一の炭素源として含む規定の培地における *Bioscreen C* MBR での酵母細胞の成長を示す図である。パネル A は、ハイブリッド酵母 1 及びハイブリッド酵母 4 の成長を示す。パネル B は、ハイブリッド酵母 7 の成長を示す。

【図 4】最終ビン詰ビール醸造での単糖類の NMR 分析を示しており、ラガー酵母 1 で製造されたビールとハイブリッド酵母 1 で製造されたビールが比較されている。

40

【図 5】エール酵母 1、ラガー酵母 1 及びハイブリッド酵母 1 由来の DAL 5 のタンパク質配列アラインメントを示す。ハイブリッド酵母 1 の DAL 5 の配列は、*Sc\_DAL5\_Hybrid\_1* (配列番号 6) と表記してある。

【図 6】UBR 1 の *Sc* 対立遺伝子によってコードされた UBR 1 のタンパク質配列アラインメントであり、ハイブリッド酵母 1 でのラガー酵母 1 *Sc* 対立遺伝子の存在が示されているが、エール酵母 1 は、一端が欠失されている。

【図 7】UBR 1 の非 *Sc* 対立遺伝子によってコードされた UBR 1 のタンパク質配列アラインメントであり、ハイブリッド酵母 1 でのラガー酵母 1 *Sc* 対立遺伝子の存在が示されている。

50

【図8】IMA1の短い対立遺伝子によってコードされたIMA1pのタンパク質配列アラインメントを示す。ハイブリッド酵母1において認められたIMA1の短い対立遺伝子によってコードされたIMA1pは、それぞれ、IMA1\_Sc\_allele\_short\_A\_Hybrid\_1及びIMA1\_Sc\_allele\_short\_B\_Hybrid\_1として表示されている。

【図9A】IMA1の長い対立遺伝子によってコードされたIMA1pのタンパク質配列アラインメントを示す。図9Aは、エール酵母1、ラガー酵母1、及び、ハイブリッド酵母1由来の長い対立遺伝子によってコードされたIMA1pのアラインメントを示す。ハイブリッド酵母1において認められたIMA1の長い対立遺伝子によってコードされたIMA1pは、それぞれ、LONG\_IMA1\_A\_Hybrid\_1\_p117及びLONG\_IMA1\_B\_Hybrid\_1\_p118として表示されている。図9Bは、エール酵母1、ラガー酵母2、ハイブリッド酵母4及びハイブリッド酵母7由来の長い対立遺伝子によってコードされたIMA1pのアラインメントを示す。

10

【図9B】IMA1の長い対立遺伝子によってコードされたIMA1pのタンパク質配列アラインメントを示す。図9Aは、エール酵母1、ラガー酵母1、及び、ハイブリッド酵母1由来の長い対立遺伝子によってコードされたIMA1pのアラインメントを示す。ハイブリッド酵母1において認められたIMA1の長い対立遺伝子によってコードされたIMA1pは、それぞれ、LONG\_IMA1\_A\_Hybrid\_1\_p117及びLONG\_IMA1\_B\_Hybrid\_1\_p118として表示されている。図9Bは、エール酵母1、ラガー酵母2、ハイブリッド酵母4及びハイブリッド酵母7由来の長い対立遺伝子によってコードされたIMA1pのアラインメントを示す。

20

【図10】IMA5様によってコードされたIMA5pのタンパク質配列アラインメントを示す。ハイブリッド酵母1において認められたIMA5様によってコードされたIMA5pは、それぞれ、ScIMA5\_Hybrid\_1\_p11及びnon-ScIMA5\_Hybrid\_1として表示されている。

【図11A】AGT1のSc対立遺伝子によってコードされたAGT1のタンパク質配列アラインメントを示す。図11Aは、ラガー酵母1、エール酵母1及びハイブリッド酵母1由来のAGT1のSc対立遺伝子によってコードされたAGT1のアラインメントを示す。ハイブリッド酵母1において認められたAGT1によってコードされたAGT1は、それぞれ、Sc\_AG\_T1\_Hybrid\_1\_p137、Sc\_AG\_T1\_Hybrid\_1\_p138、及び、Sc\_AG\_T1\_Hybrid\_1\_p139として表示されている。図11Bは、ラガー酵母2、エール酵母1、ハイブリッド酵母4、及び、ハイブリッド酵母7由来のAGT1のSc対立遺伝子によってコードされたAGT1のアラインメントを示す。

30

【図11B】AGT1のSc対立遺伝子によってコードされたAGT1のタンパク質配列アラインメントを示す。図11Aは、ラガー酵母1、エール酵母1及びハイブリッド酵母1由来のAGT1のSc対立遺伝子によってコードされたAGT1のアラインメントを示す。ハイブリッド酵母1において認められたAGT1によってコードされたAGT1は、それぞれ、Sc\_AG\_T1\_Hybrid\_1\_p137、Sc\_AG\_T1\_Hybrid\_1\_p138、及び、Sc\_AG\_T1\_Hybrid\_1\_p139として表示されている。図11Bは、ラガー酵母2、エール酵母1、ハイブリッド酵母4、及び、ハイブリッド酵母7由来のAGT1のSc対立遺伝子によってコードされたAGT1のアラインメントを示す。

40

【図12A】AGT1の非Sc対立遺伝子によってコードされたAGT1のタンパク質配列アラインメントを示す。図12Aは、ラガー酵母1及びハイブリッド酵母1由来のAGT1の非Sc対立遺伝子によってコードされたAGT1のアラインメントを示す。ハイブリッド酵母1において認められたAGT1によってコードされたAGT1は、Non-Sc\_AG\_T1\_Hybrid\_1として表示されている。図12Aは、ラガー酵母1、ラガー酵母2、ハイブリッド酵母1、ハイブリッド酵母4、及び、ハイブリッド酵母7由来のAGT1の非Sc対立遺伝子によってコードされたAGT1のアラインメントを示す。

【図12B】AGT1の非Sc対立遺伝子によってコードされたAGT1のタンパク質配列アラインメントを示す。図12Aは、ラガー酵母1及びハイブリッド酵母1由来のAG

50

T 1 の非 S c 対立遺伝子によってコードされた A G T 1 のアラインメントを示す。ハイブリッド酵母 1 において認められた A G T 1 によってコードされた A G T 1 は、Non - S c \_ A G T 1 \_ H y b r i d 1 として表示されている。図 1 2 A は、ラガー酵母 1、ラガー酵母 2、ハイブリッド酵母 1、ハイブリッド酵母 4、及び、ハイブリッド酵母 7 由来の A G T 1 の非 S c 対立遺伝子によってコードされた A G T 1 のアラインメントを示す。

【図 1 3】2 g / L のマルトトリオースを唯一の炭素源として含む規定の培地における酵母の成長を示す図である。そこで示したデータは、生物学的複製物の典型例である。

【図 1 4】2 g / L のマルツロースを唯一の炭素源として含む規定の培地における酵母の成長を示す図である。そこで示したデータは、生物学的複製物の典型例である。

【図 1 5】2 g / L のコージピオースを唯一の炭素源として含む規定の培地における酵母の成長を示す図である。そこで示したデータは、生物学的複製物の典型例である。

【図 1 6】ラガー酵母 2、ハイブリッド酵母 4 及びハイブリッド酵母 7 で、麦汁を発酵している間の時間との関数として外観エキス濃度を示す。

【発明を実施するための形態】

【0014】

定義

本明細書において使用する「a」は、それが使われている文脈に応じて、1 つまたはそれ以上のことを意味することができる。

【0015】

本明細書において使用する「A E」という用語は、「外観エキス濃度 (Apparent Extract)」の略語である。この「外観エキス濃度」は、エキスの重量%によるビール麦汁の密度の単位であり、プラートの尺度で表現される。それは、ビール発酵の最後において測定した最終比重または比重のことである。アルコール飲料の関連で使われる比重とは、水と比較して得た液体の相対密度を指す。麦汁に溶解した糖類が増えれば、麦汁の密度も大きくなる。

【0016】

アミノ酸は、I U P A C の一文字コード及び三文字コードを用いて、本明細書において、命名をすることができる。

【0017】

本明細書において使用する「ビール」という用語は、麦汁の発酵によって調製された飲料を指す。好ましくは、当該発酵は、酵母によって行われる。

【0018】

本明細書において使用する「炭素源」という用語は、酵母にエネルギーを供給し、かつ、細胞の生合成のために炭素を供給することができる、任意の有機分子を指す。特に、当該炭素源を、炭水化物とすることができ、及び、より好ましくは、当該炭素源を、単糖及び/または二糖であることができる。

【0019】

「懸濁液での細胞」という用語は、容器内の液体培地での細胞のインキュベーションとの関連で、本明細書で使用される。「懸濁液での細胞」は、インキュベーション後に容器の底部に沈殿しておらず、当該液体培地内で自由に浮遊している細胞のことである。懸濁液での細胞は、容器の上部より当該液体培地を採取し、そして、そこに含まれている細胞を計数することによって決定することができる。

【0020】

「所定のジアセチル」という用語は、ジアセチルのレベルが、所定の閾値よりも低いことを指すものであって、ラガービールにおいて異臭と認められる閾値よりも低いレベルに設定される。好ましくは、当該ジアセチルのレベルが、多くとも 30 p p b にある場合に、当該ジアセチルが、所定のものであると認められる。

【0021】

「コードする」または「コードされた」は、特定の核酸に関連して、特定のタンパク質への翻訳のための情報を含むことを意味する。タンパク質をコードする核酸またはポリヌ

10

20

30

40

50

クレオチドは、核酸の翻訳領域内に、非翻訳配列、例えば、イントロンを含むことができ、あるいは、例えば、cDNA内の介在性非翻訳配列を欠如することができる。タンパク質がコードされる情報は、コドンの使用によって特定される。

【0022】

核酸に関連して本明細書において使用する「発現」は、核酸断片から誘導されたセンスmRNAまたはアンチセンスRNAの転写及び蓄積として理解される。タンパク質に関連して用いられる「発現」は、mRNAをポリペプチドへ翻訳することを指す。

【0023】

「遺伝子」という用語は、ポリペプチド鎖の製造に関与するDNAのセグメントのことを指し、コード領域の前方及び後方の領域(プロモーター及びターミネーター)を含む。さらに、S. cerevisiaeゲノムの遺伝子ではわずか5%であるが、幾つかの酵母ではイントロンも含んでいる。RNAの転写後に、スプライシングによってイントロンは除去され、成熟したメッセンジャーRNA(mRNA)が生成される。

10

【0024】

酵母に関して本明細書において使用する「成長」という用語は、酵母細胞が増殖するプロセスを指す。よって、酵母細胞が成長していると、酵母細胞の数は増大している。酵母細胞の数は、任意の有用な方法によって、例えば、OD(620nm)を決定することによって、決定をすることができる。OD(620nm)の増大は、酵母細胞の数の増大に対応している。酵母の成長を許容する条件は、酵母細胞の数の増大を許容する条件のことである。一般的に、かような条件は、適切な栄養、例えば、炭素源と窒素源、ならびに、一般的には、5~40の範囲の適切な温度の存在を必要とする。

20

【0025】

本明細書において使用する「窒素源」という用語は、有機性窒素を含む任意の分子、及び/または、アンモニウムを含む分子を指す。特に、当該窒素源を、有機性窒素源、例えば、ペプチド類、アミノ酸、及び/または、他のアミン類であることができる。当該窒素源を、アンモニウムとすることもできる。よって、N<sub>2</sub>は、本明細書では、「窒素源」として認められていない。

【0026】

「麦芽」という用語は、麦芽処理された穀物粒を指す。麦芽製造は、穀物粒(例えば、大麦粒)の発芽の特別な形態であって、麦芽製造施設のスティーブタンクと発芽箱を含むが、それらに限定されない、制御された環境条件下で実施される。一般的に、麦芽製造は、当該穀粒の浸漬が含まれ、発芽がそれに続く。麦芽製造プロセスは、穀物粒(例えば、大麦粒)の乾燥、例えば、乾燥釜乾燥プロセスによって停止することができ、それは、通常は、高温下で実施される。麦芽は、粉碎することで加工することができ、よって、「粉碎麦芽」または「粉末」と称されることとなる。

30

【0027】

「糖化」は、粉碎した麦芽を水中でインキュベーションすることである。好ましくは、糖化は、特定の温度で、及び、特定の体積の水を使用して実施される。この温度と水の体積は重要なものであり、これらは、麦芽由来の酵素活性の低下速度に影響を及ぼし、その結果、特に、そこで発生し得るデンプンの加水分解の量に影響が及ぶこととなる。プロテアーゼ作用も重要な場合がある。糖化は、副原料の存在下で行うことができ、副原料は、麦芽以外のあらゆる炭水化物源、例えば、大麦、大麦シロップ、または、トウモロコシ、または、コメなどがあるが、これらに限定されず、全穀粒、または、粗挽き穀物などの加工産物、シロップまたはデンプンのいずれかを含む、ものとして理解される。上記のすべての副原料は、基本的には、糖分量の追加供給源として使用することができる(一般的に、シロップは、麦汁が加熱されている間に加えられる)。醸造における副原料の加工の要件は、使用する副原料の状態とタイプ、特に、デンプンのゲル化または液化の温度によって定まる。このゲル化の温度が、麦芽の通常糖化温度よりも高い場合には、デンプンは、麦汁への添加前にゲル化及び液化される。

40

【0028】

50

本明細書において使用する「プラート度」という用語は、プラート基準で測定した密度を指す。このプラート基準は、比重計スケールから経験的に導くものであり、ビールまたは麦汁の密度を、エキスの重量%で測定する。このスケールは、糖の重量%として密度を表す。

【0029】

「麦汁」という用語は、粉碎麦芽、または、緑麦芽、または、粉碎緑麦芽などの麦芽の液体エキスを意味する。大麦の醸造において、モルト化していない大麦のエキスと、大麦成分を加水分解する酵素混合物とをインキュベーションすることによっても、麦汁を調製することができる。当該麦芽または大麦由来のエキスに加えて、当該液体エキスは、麦芽、及び、一部が発酵可能な糖類に変換された追加のデンプン含有物質などの追加成分(例えば、副原料)から調製することができる。一般的に、この麦汁は、糖化により、及び任意でそれに続いて「麦汁ろ過」により、すなわち糖化の後、熱水を用いてビール粕から残留糖類やその他の化合物を抽出するプロセスで取得される。一般的に、麦汁ろ過は、ロータータン、糖化フィルター、または、ビール粕から抽出した水の分離を許容する他の器具において実施される。一般的に、糖化の後に取得される麦汁は、「第1の麦汁」と呼ばれており、一方で、糖類の回収の後に取得される麦汁は、「第2の麦汁」と呼ばれている。特に断りの無い場合、麦汁の用語は、第1の麦汁、第2の麦汁、または、両者の組み合わせであり得る。従来 of ビール製造の過程では、麦芽は、ホップと一緒に煮沸されるが、本願発明は、麦汁の煮沸を少なくし、あるいは、麦汁の煮沸を回避する方法を提供する。ホップを含まない麦汁は、「甘味麦汁」と呼ぶこともでき、一方で、ホップと一緒に煮沸/加熱した麦汁は、「煮沸麦汁」と呼ぶことができる。

10

20

【0030】

本明細書において使用する「XXを資化することができる酵母細胞」という用語は、XXを取得し、及び、分解することができる酵母細胞を指す。

【0031】

本明細書において使用する「XXを唯一の炭素源として資化することができる酵母細胞」という用語は、XXを唯一の炭素源として含有している培地で成長することができる酵母細胞を指す。よって、当該培地は、好ましくは、XX以外のいかなる他の炭水化物をも含んでいない。

【0032】

酵母細胞

本願発明は、後述の特性I、II、yIII、IV、V、VI、VII及びXIの少なくとも1つを有する酵母細胞に関する。

【0033】

特に、好ましくは、当該酵母細胞は、少なくとも後述の特性I及びIIを有する。

【0034】

また、好ましくは、当該酵母細胞は、少なくとも後述の特性IIを有する。また、好ましくは、当該酵母細胞は、少なくとも後述の特性II及びIIIを有する。

【0035】

特性Iは、下記「特性I」の節で記載する特性Iのいずれであってもよい。特に、特性Iは、酵母細胞が、イソマルトースを唯一の炭素源として資化できることである。

【0036】

特性IIは、下記「特性II」の節で記載する特性Vのいずれであってもよい。特に、特性IIは、酵母細胞が、パノースを唯一の炭素源として資化できることである。

【0037】

特性IIIは、下記「特性III」の節で記載する特性IIIのいずれであってもよい。特に、特性IIIは、酵母細胞が、ジペプチド類を唯一の窒素源として資化できることである。

【0038】

特性IVは、下記「特性IV」の節で記載する特性IVのいずれであってもよい。特に

30

40

50

、特性ⅠⅤは、酵母細胞が、トリペプチド類を唯一の窒素源として資化できることである。

【0039】

特性Ⅴは、下記「特性ⅠⅠⅠ」の節で記載する特性Ⅴのいずれであってもよい。特に、特性ⅠⅠⅠは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、1つ以上のアミノ酸のレベルが、出発濃度の10%を超えないレベルに下げることができることである。

【0040】

特性ⅤⅠは、下記「特性ⅤⅠ」の節で記載する特性ⅤⅠのいずれであってもよい。特に、特性ⅤⅠは、当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラートの糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、ジアセチルが、所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、プラート度当たり、少なくとも4.7プロミルのエタノールを生成することができることである。

【0041】

特性ⅤⅠⅠは、下記「特性ⅤⅠⅠ」の節で記載する特性ⅤⅠⅠのいずれであってもよい。特に、特性ⅤⅠⅠは、当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラートの糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、ジアセチルが、所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、少なくとも70の真性発酵度で糖を発酵させることができることである。

【0042】

特性ⅩⅠは、下記「特性ⅩⅠ」の節で記載する特性ⅩⅠのいずれであってもよい。特に、特性ⅩⅠは、当該酵母細胞が、長くとも4日間の一次発酵の折に麦汁を発酵することができることである。

【0043】

本願発明の酵母細胞は、1つ以上の特性を有することができる。したがって、当該酵母細胞は、少なくとも2つ、好ましくは、少なくとも3つ、より好ましくは、少なくとも4つ、さらにより好ましくは、少なくとも5つ、少なくとも6つなど、特性Ⅰ、ⅠⅠ、ⅠⅠⅠ、ⅠⅤ、Ⅴ、ⅤⅠ及びⅤⅠⅠのすべてなど、を有することができる。当該酵母細胞は、少なくとも2つ、好ましくは、少なくとも3つ、より好ましくは、少なくとも4つ、さらにより好ましくは、少なくとも5つ、少なくとも6つなど、特性Ⅰ、ⅠⅠ、ⅠⅠⅠ、ⅠⅤ、Ⅴ、ⅤⅠ、ⅤⅠⅠ及びⅩⅠのすべてなど、を有することもできる。

【0044】

よって、本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ及びⅠⅠを有することができる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ及びⅠⅠⅠを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ及びⅠⅤを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ及びⅤを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ及びⅤⅠを有することもできる。当該酵母細胞は、特性Ⅰ及びⅤⅠⅠを有することもできる。当該酵母細胞は、特性Ⅰ及びⅩⅠを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ及びⅠⅠⅠを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ及びⅠⅤを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ及びⅤを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ及びⅤⅠを有することもできる。当該酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ及びⅤⅠⅠを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ、ⅠⅠⅠ及びⅠⅤを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ、ⅠⅠⅠ及びⅤⅠを有することもできる。当該酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ、ⅠⅠⅠ及びⅤⅠⅠを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ、ⅠⅠⅠ及びⅩⅠを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ、ⅠⅠⅠ、ⅠⅤ及びⅤを有することもできる。本願発明の酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ、ⅠⅠⅠ、ⅠⅤ及びⅤⅠを有することもできる。当該酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ、ⅠⅠⅠ、ⅠⅤ及びⅤⅠⅠを有することもできる。当該酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠ、ⅠⅠⅠ、ⅠⅤ及びⅩⅠを有することもできる。本願発明の酵

10

20

30

40

50





ともできる。当該酵母細胞は、特性V I及びV I Iを有することもできる。当該酵母細胞は、特性V I及びX Iを有することもできる。当該酵母細胞は、特性V I、V I I及びX Iを有することもできる。当該酵母細胞は、特性V I I及びX Iを有することもできる。

【0045】

本願発明の好適な実施形態において、当該酵母細胞は、特性I、I I、I I I、I V、V、V I及びV I Iのすべてを有する。本願発明の好適な実施形態において、当該酵母細胞は、特性I、I I、I I I、I V、V、V I、V I I及びX Iのすべてを有する。

【0046】

上記のように概説した特性に加えて、本願発明の酵母細胞は、1つ以上のさらなる特性を有することができる。

10

【0047】

よって、1つ以上の特性I、I I、I I I、I V、V、V I、V I I及び/またはX Iに加えて、そこで、当該酵母細胞は、特性V I I Iを有することもできる。特性V I I Iは、下記「特性V I I I」の節で記載する特性V I I Iのいずれであってもよい。特に、特性V I I Iは、酵母細胞が、メリビオースを唯一の炭素源として資化できることであり得る。

【0048】

特性I、I I、I I I、I V、V、V I、V I I、V I I I及び/またはX Iの1つ以上に加えて、そこで、当該酵母細胞は、特性I Xを有することもできる。特性I Xは、下記「特性I X」の節で記載する特性I Xのいずれであってもよい。特に、特性I Xは、酵母細胞が、二糖及び/または三糖を唯一の炭素源として資化できることにあり得る。

20

【0049】

特性I、I I、I I I、I V、V、V I、V I I、V I I I、I X及び/またはX Iの1つ以上に加えて、次いで、当該酵母細胞は、特性Xを有することもできる。特性Xは、下記「特性X」の節で記載する特性Xのいずれであってもよい。特に、特性Xは、酵母細胞が、懸濁液に僅かな数の細胞しか有していないことであり得る。

【0050】

本願発明の好適な実施形態において、当該酵母細胞は、特性I、I I、I I I、I V、V、V I、V I I、V I I I、I X、X及びX Iのすべてを有することができる。

【0051】

当該酵母細胞は、任意の適切な種の酵母細胞であることができる。本願発明の好適な実施形態において、当該酵母細胞は、*S . p a s t o r i a n u s*種の酵母細胞と*S . c e r e v i s i a e*種の酵母細胞との間のハイブリッドである。

30

【0052】

特性I

本願発明の酵母細胞は、特性Iを有することができ、特性Iは、当該酵母細胞が、イソマルトースを資化することができることである。よって、イソマルトースを含有する培地においてインキュベーションすれば、当該酵母細胞は、当該イソマルトースの少なくとも一部を除去することができる。

【0053】

より好ましくは、当該特性Iは、当該酵母細胞が、イソマルトースを唯一の炭素源として資化することができることである。よって、当該酵母細胞は、イソマルトースを唯一の炭素源として含有する培地において成長することができる。そのような培地は、好ましくは、イソマルトース以外のいかなる単糖類及び/または二糖類をも含んでおらず、及び、より好ましくは、そのような培地は、イソマルトース以外のいかなる炭水化物も含まない。

40

【0054】

酵母細胞が、イソマルトースを発酵できる場合であっても、このことは、当該酵母細胞が、イソマルトースを唯一の炭素源として資化できることを必ずしも意味するものではない。よって、当該酵母細胞が、イソマルトースを資化すること、及び、イソマルトースを

50

唯一の炭素源として資化することの双方ができることが好ましい。

【0055】

特に、特性Iは、当該酵母細胞が、1～5 g/Lの範囲内、例えば、1～3 g/Lの範囲、2 g/Lなどのイソマルトースを唯一の炭素源として含有する培地で成長することができる、であることができる。そのような培地は、好ましくは、当該濃度のイソマルトース以外のいかなる炭水化物も含まない。

【0056】

酵母細胞が、イソマルトースを唯一の炭素源として資化できるかどうかを決定するための有用な1つの方法が、後出の実施例5において記載されている。

【0057】

特性Iを有する酵母細胞は、好ましくは、遺伝子型IV、V及びVIの1つ以上も有しており、より好ましくは、後述のように、遺伝子型IV、V及びVIのすべても有する。

【0058】

特性II

本願発明の酵母細胞は、特性IIを有することができ、特性IIは、当該酵母細胞が、パノースを資化することができることである。よって、パノースを含有する培地においてインキュベーションすれば、次いで、当該酵母細胞は、当該パノースの少なくとも一部を除去することができる。好ましくは、当該酵母細胞は、当該培地に含まれるパノースの少なくとも45%、少なくとも50%など、例えば、少なくとも60%を除去することができる(例えば、発酵することができる)。特に、当該培地は、麦汁であることができる。好ましくは、ジアセチルが、所定のレベルになるまで、例えば、4～6日間、例えば、5日間、インキュベーションされる場合に、当該酵母細胞は、上記の量のパノースを除去することができる。例えば、インキュベーションは、16～18で行うことができる。よって、後出の実施例5に記載にしたがって麦汁を発酵して決定した場合に、当該酵母細胞は、麦汁に含まれるパノースの少なくとも45%、少なくとも50%など、例えば、少なくとも60%を除去することができる。

【0059】

より好ましくは、当該特性IIは、当該酵母細胞が、パノースを唯一の炭素源として資化することができることである。よって、当該酵母細胞は、パノースを唯一の炭素源として含有する培地において成長することができる。そのような培地は、好ましくは、パノース以外のあらゆる単糖類及び/または二糖類を含んでおらず、及び、より好ましくは、このような培地は、パノース以外のいかなる炭水化物も含まない。

【0060】

酵母細胞が、パノースを発酵できる場合であっても、このことは、当該酵母細胞が、パノースを唯一の炭素源として資化できることを必ずしも意味するものではない。1つの実施形態において、当該酵母細胞は、パノースを資化すること、及び、パノースを唯一の炭素源として資化することの双方ができる。

【0061】

特に、特性IIは、当該酵母細胞が、1～5 g/Lの範囲内、例えば、1～3 g/Lの範囲、2 g/Lなどのパノースを唯一の炭素源として含有する培地で成長することができることであることができる。そのような培地は、好ましくは、当該濃度のパノース以外のいかなる炭水化物も含まない。

【0062】

酵母細胞が、パノースを唯一の炭素源として資化できるかどうかを決定するための有用な1つの方法が、後出の実施例5において記載されている。

【0063】

特性IIを有する酵母細胞は、好ましくは、遺伝子型IV、V及びVIの1つ以上も有しており、より好ましくは、後述のように、遺伝子型IV、V及びVIのすべても有する。

【0064】

10

20

30

40

50

## 特性 I I I

本願発明の酵母細胞は、特性 I I I を有することができ、特性 I I I は、当該酵母細胞が、ジペプチド類を資化することができることである。よって、ジペプチド類を含有する培地においてインキュベーションすれば、当該酵母細胞は、当該ジペプチド類の少なくとも一部を除去することができる。

## 【 0 0 6 5 】

より好ましくは、当該特性 I I I は、当該酵母細胞が、ジペプチド類を唯一の窒素源として資化することができることである。よって、当該酵母細胞は、ジペプチド類を唯一の窒素源として含有する培地において成長することができる。そのような培地は、好ましくは、ジペプチド類以外のいかなるアミノ酸及びペプチド類も含んでおらず、及び、より好ましくは、そのような培地は、ジペプチド類以外のいかなるアミノ酸、ペプチド類、及び、アンモニウムも含んでいない。

10

## 【 0 0 6 6 】

特性 I I I は、当該酵母細胞が、任意のジペプチドを唯一の窒素源として資化することができることである。しかしながら、当該酵母は、1つ以上の特定のジペプチド類だけを唯一の窒素源として資化することができる、ということも可能である。

## 【 0 0 6 7 】

特性 I I I は、当該酵母細胞が、以下のジペプチド類の少なくとも1つ、少なくとも2つなど、例えば、少なくとも3つ、少なくとも4つなど、例えば、少なくとも5つ、すべてなどを利用することができる、とすることが好ましい：

20

Met - Tyr

Leu - Tyr

Val - Met

Phe - Tyr

Ile - Leu

Ile - Asn。

## 【 0 0 6 8 】

1つの実施形態において、当該特性 I I I は、当該酵母細胞が、以下のジペプチド類の少なくとも1つ、少なくとも3つなど、例えば、少なくとも5つ、少なくとも7つなど、例えば、少なくとも9つ、すべてなどを利用することができることである：

30

Gly - Arg

Ile - Asn

Lys - Tyr

Met - Lys

Val - Ala

Val - Asn

Val - Gly

Val - Gln

Val - Met

Val - Ser。

40

## 【 0 0 6 9 】

特性 I I I は、当該酵母細胞が、式 Val - X a a の1つ以上のジペプチド類を資化することができることであり得、式中、X a a は、任意のアミノ酸を表す。例えば、当該特性 I I I は、当該酵母細胞が、式 Val - X a a のジペプチド類の少なくとも3つ、少なくとも4つなど、例えば、少なくとも6つの異なるジペプチド類を資化できることである。特に、X a a は、Ala、Asn、Gly、Gln、Met 及び Ser からなる群から選択されるアミノ酸であり得る。

## 【 0 0 7 0 】

特性 I I I は、当該酵母細胞が、式 Ala - X a a の1つ以上のジペプチド類を資化することができることであり得、式中、X a a は、任意のアミノ酸を表す。特に、X a a は

50

、G l u、G l y、H i s及びT h rからなる群から選択されるアミノ酸であり得る。式A l a - X a aのジペプチドを資化する能力は、アラントイン異化の中間体であるアラントイン酸を資化する能力と関係していることが往々にしてある。よって、当該酵母細胞が、さらに、アラントインを唯一の窒素源として資化することができることが好ましい。

【0071】

特性I I Iは、当該酵母細胞が、以下のジペプチド類の1つ以上、例えば、以下のジペプチド類の少なくとも3つ、以下のジペプチド類の少なくとも5つなど、以下のジペプチド類のすべて、などを資化することができる、とすることもできる

M e t - T y r

L e u - T y r

V a l - M e t

P h e - T y r

I l e - L e u

I l e - A s n

A l a - X a a

(式中、X a aは、任意のアミノ酸であり、及び、好ましくは、X a aは、G l u、G l y、H i sまたはT h rである)。

【0072】

酵母細胞が、ジペプチド類を唯一の窒素源として資化できるかどうかを決定するための有用な1つの方法が、後出の実施例6において記載されている。実施例6に記載の方法が、そこで試験をしたジペプチド類を交換することで、任意のジペプチドが、唯一の窒素源として資化可能かどうかを検証するために使用できることは、当業者であれば理解できるであろう。

【0073】

特性I I Iを有する酵母細胞は、好ましくは、遺伝子型I、I I及びI I Iの1つ以上も有しており、より好ましくは、後述のように、遺伝子型I、I I及びI I Iのすべても有する。

【0074】

特性I V

本願発明の酵母細胞は、特性I Vを有することができ、特性I Vは、当該酵母細胞が、トリペプチド類を資化することができることである。よって、トリペプチド類を含有する培地においてインキュベーションすれば、次いで、当該酵母細胞は、当該トリペプチド類の少なくとも一部を除去することができる。

【0075】

より好ましくは、当該特性I Vは、当該酵母細胞が、トリペプチド類を唯一の窒素源として資化することができることである。よって、当該酵母細胞は、トリペプチド類を唯一の窒素源として含有する培地において成長することができる。そのような培地は、好ましくは、トリペプチド類以外のいかなるアミノ酸及びペプチド類を含んでおらず、及び、より好ましくは、そのような培地は、トリペプチド類以外のいかなるアミノ酸、ペプチド類、及び、アンモニウムも含んでいない。

【0076】

特性I Vは、当該酵母細胞が、任意のトリペプチドを唯一の窒素源として資化することができることである。しかしながら、当該酵母は、1つ以上の特定のトリペプチド類だけを唯一の窒素源として資化することができる、ということも可能である。

【0077】

特性I Vは、トリペプチドG l y - G l y - G l yを唯一の窒素源として資化することができる、とすることが好ましい。

【0078】

酵母細胞が、トリペプチド類を唯一の窒素源として資化できるかどうかを決定するための有用な1つの方法が、後出の実施例6において記載されている。実施例6に記載の方法

10

20

30

40

50

が、そこで試験をしたトリペプチド類を交換することで、任意のトリペプチドが、唯一の窒素源として資化可能かどうかを検証するために使用できることは、当業者であれば理解できるであろう。

【0079】

特性Ⅳを有する酵母細胞は、好ましくは、遺伝子型Ⅰ、ⅠⅠ及びⅠⅠⅠの1つ以上も有しており、より好ましくは、後述するように、遺伝子型ⅠⅠ及びⅠⅠⅠのすべても有する。

【0080】

特性Ⅴ

本願発明の酵母細胞は、特性Ⅴを有することができ、特性Ⅴは、アミノ酸の資化度が高いことである。 10

【0081】

一般的に、本願発明の酵母細胞は、アミノ酸を高い程度で資化できることが好ましい。このことは、アミノ酸に蓄えられたエネルギーが利用できること、ならびに、発酵後に低レベルのアミノ酸が確保することの双方を確実なものにする。よって、当該酵母が、ビールの調製のために用いられる場合、最終ビールは、低レベルのアミノ酸を有することになる。ストレッカーアルデヒドは、ビールの「熟成した」風味の重要な成分であり、その一部は、ビン詰めされたビールそれ自体のアミノ酸から発生するものである。知覚閾値の低いストレッカーアルデヒドの形成への関与が示されているアミノ酸として、バリン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、及び、フェニルアラニンがある(表2)。ストレッカーアルデヒドの形成は、その濃度が増大することで、「熟成風味」の知覚度が高まるので、重要な役割を果たす。 20

【0082】

したがって、当該酵母細胞が、従来のラガー酵母及びエール酵母の双方よりも高い程度でアミノ酸を資化できるということは、本願発明の酵母にとって有利なことである。

【0083】

よって、本願発明の酵母細胞が、特性Ⅴを有することが好ましく、当該特性Ⅴは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、1つ以上のアミノ酸のレベルが、出発濃度の10%を超えないレベルに下げることができるということである。特に、特性Ⅴは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、少なくとも12、少なくとも13など、例えば、少なくとも14の異なるアミノ酸のレベルが、出発濃度の10%未満にまで下げることができることであることができる。例えば、当該酵母細胞は、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、12~20の範囲、14~20の範囲のアミノなどを、出発濃度の10%を超えない濃度にまで下げることができる。 30

【0084】

当該特性Ⅴは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、総アミノ酸レベルを、出発濃度の30%を超えない、25%を超えないレベルなどにまで下げることができる、とすることもできる。 40

【0085】

当該特性Ⅴは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、1つ以上のアミノ酸のレベルを、出発濃度の5%を超えないレベルにまで下げることができる、とすることもできる。特に、特性Ⅴは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、少なくとも10、少なくとも11など、例えば、少なくとも13の異なるアミノ酸のレベルを、出発濃度の5%を超えないレベルにまで下げることができることであることができる。

【0086】

当該特性Ⅴは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、イ 50

ンキュベーションした後に、1つ以上のアミノ酸のレベルを、出発濃度の1%を超えないレベルまで下げることができる、とすることもできる。特に、特性Vは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、少なくとも5、少なくとも6など、例えば、少なくとも7の異なるアミノ酸のレベルを、出発濃度の1%を超えないレベルにまで下げることができることであることができる。

【0087】

当該特性Vは、当該酵母細胞が、ストレッカーアルデヒドを形成する1つ以上のアミノ酸のレベルを下げるることができる、とすることもできる。よって、特性Vを、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、メチオニン(M e t)のレベルを、出発濃度の10%未満、好ましくは5%未満、さらにい 10  
っそう好ましくは多くとも2%、さらにより好ましくは1%未満にまで下げることができることであることができる。特に、当該酵母細胞は、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、ほぼすべてのメチオニンを除去することができる。特性Vは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、バリ 20  
ン(V a l)のレベルを、出発濃度の10%未満、好ましくは5%未満、さらにいっそう好ましくは多くとも2%にまで下げることができることであることができる。当該特性Vは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、イソロイシン(I l e)のレベルを、出発濃度の10%未満、好ましくは5%未満、さら 30  
により好ましくは1%未満にまで下げることができることであることができる。特に、当該酵母細胞は、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、ほぼすべてのイソロイシンを除去することができる。当該特性Vは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、ロイシン(L e u)のレベルを、出発濃度の10%未満、好ましくは5%未満、さら 40  
にいっそう好ましくは多くとも2%にまで下げることができることであることができる。当該特性Vは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、フェニルアラニン(P h e)のレベルを、出発濃度の10%未満、好ましくは5%未満、さら 50  
により好ましくは1%未満にまで下げることができることであることができる。特に、当該酵母細胞は、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、ほぼすべてのフェニルアラニンを除去することができる。

【0088】

本明細書で使用される「ほぼすべてを除去する」という用語は、U P L Cによって検出が行われた際に、アミノ酸が、検出レベルに満たないレベルにまでアミノ酸が除去されている、ことを指すものである。

【0089】

特性Vを、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、アミノ酸メチオニン(M e t)、バリ 40  
ン(V a l)、イソロイシン(I l e)、ロイシン(L e u)、及び、フェニルアラニン(P h e)の少なくとも2つ、好ましくは少なくとも3つ、より好ましくは少なくとも4つ、よりいっそう好ましくはすべてのレベルを、出発濃度の10%未満、好ましくは5%未満、さら 50  
にいっそう好ましくは多くとも2%にまで下げることができる、ものも本願発明に含まれる。

【0090】

当該特性Vを、当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラートの糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、ジアセチルが、所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、当該酵母細胞が、アミノ酸メチオニン(M e t)、バリ 50  
ン(V a l)、イソロイシン(I l e)、ロイシン(L e u)、及び、フェニルアラニン(P h e)の少なくとも1つの少なくとも80%を資化することができる、とすることもできる。

【0091】

本願発明の酵母細胞が、特性Vを有しており、当該特性Vが、当該酵母細胞を、6日間 50

、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、メチオニン(Met)、バリン(Val)、イソロイシン(Ile)、ロイシン(Leu)、及び/または、フェニルアラニン(Phe)の総アミノ酸レベルを、多くとも400mg/L、多くとも100mg/Lなど、多くとも50mg/Lなど、例えば、10mg/Lにまで低減することができる、とすることも好ましい。

#### 【0092】

当該特性Vは、本節において記載した上記特性Vの任意の特性の組み合わせとすることもできる。よって、例えば、当該特性Vを、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、少なくとも12、少なくとも13など、例えば、少なくとも14の異なるアミノ酸のレベルを、出発濃度の10%未満にまで下げることができ、かつ、総アミノ酸レベルを、出発濃度の30%未満、25%未満などにまで下げることができることであることができる。当該特性Vは、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、少なくとも10のアミノ酸のレベルを、出発濃度の5%未満にまで下げることができ、かつ、総アミノ酸レベルを、出発濃度の30%未満、25%未満などにまで下げることができることであることもできる。当該特性Vを、当該酵母細胞が、5日間、当該酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、少なくとも5つのアミノ酸のレベルを、出発濃度の1%未満にまで下げることができ、かつ、総アミノ酸レベルを、出発濃度の30%未満、25%未満などにまで下げることができる、とすることもできる。当該酵母細胞の成長を許容する条件は、本節の「飲料を製造するための方法」の節で下に記載されている。当該条件は、その節において記載する発酵条件のいずれでもよい。例えば、当該条件は、麦汁において、10~20の温度で行うインキュベーションであることができる。アミノ酸のレベルは、任意の有用な方法、例えば、HPLCまたはUPLCによって決定することができる。酵母細胞でのアミノ酸の資化度が高いかどうかを決定するための有用な方法が、後出の実施例4及び9において記載されている。

#### 【0093】

##### 特性VI

本願発明の酵母細胞は、特性VIを有することができ、特性VIは、高いアルコール産生のことである。所定の酵母細胞によって産生されるアルコールの量は、出発物質の影響を強く受けるので、特性Iを、プラート度当たり、少なくとも4.7プロミルのエタノールを生成することができる、ことにするのが好ましい。プラート度は、液体の密度の大きさを示すものであり、よって、糖類と他の発酵可能な栄養素のレベルを示すものである。

#### 【0094】

特に、当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、ジアセチルが、所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、プラート度当たり、少なくとも4.7プロミルのエタノールを生成することができる、ことにするのが好ましい。

#### 【0095】

好ましくは、当該ジアセチルのレベルが、多くとも30ppbにある場合に、当該ジアセチルが、所定のものであると認められる。

#### 【0096】

##### 特性VII

本願発明の酵母細胞は、特性VIIを有することができ、特性VIIは、高い真正発酵度(RDF)である。

#### 【0097】

RDFは、出発液体に含まれている糖が、アルコールへと発酵された程度を測定するものである。よって、この出発液体が麦汁であれば、RDFは、麦汁に含まれている糖が、得られたビールの中でどの程度アルコールへと発酵されたかを測定する。

#### 【0098】

本願発明の酵母細胞が、特性VIIを有しており、特性VIIは、当該酵母細胞が、少

10

20

30

40

50

なくとも68%、少なくとも69%など、例えば、少なくとも70%のRDF、及び、より好ましくは少なくとも71%のRDFで糖を発酵できることである。

【0099】

特に、当該酵母細胞が、少なくとも1つの親株のRDFよりも大きなRDFで糖を発酵することができるのが好ましい。よって、本願発明の酵母細胞は、親株の1つのRDFよりも少なくとも1%、例えば、少なくとも2%も大きいRDFで糖を発酵することができる、ハイブリッド酵母細胞であることができる。特に、本願発明の酵母細胞は、親の*S. pastorianus*株と親の*S. cerevisiae*株との間のハイブリッドであることができる。かような実施形態において、当該酵母細胞は、親の*S. pastorianus*株のRDFよりも少なくとも1だけ大きなRDFで糖を発酵することができる。本願発明の酵母細胞を、親の*S. diastaticus*株と親の*S. cerevisiae*株との間のハイブリッドであることができる。かような実施形態において、当該酵母細胞は、親の*S. diastaticus*株のRDFよりも少なくとも1%大きい、好ましくは、少なくとも2%大きいRDFで糖を発酵することができる。

10

【0100】

特性VII

本願発明の酵母細胞は、特性VIIを有することができ、特性VIIは、当該酵母細胞が、メリビオースを資化することができることである。よって、メリビオースを含有する培地においてインキュベーションすれば、当該酵母細胞は、当該メリビオースの少なくとも一部を除去することができる。

20

【0101】

より好ましくは、当該特性VIIは、当該酵母細胞が、メリビオースを唯一の炭素源として資化することができることである。よって、当該酵母細胞は、メリビオースを唯一の炭素源として含有している培地で成長することができる。そのような培地は、好ましくは、メリビオース以外のいかなる単糖類及び/または二糖類も含んでおらず、及び、より好ましくは、このような培地は、メリビオース以外のいかなる炭水化物も含んでいない。

【0102】

酵母細胞が、メリビオースを唯一の炭素源として資化できるかどうかを決定するための有用な1つの方法が、後出の実施例7において記載されている。

【0103】

特性IX

本願発明の酵母細胞は、特性IXを有することができ、特性IXは、当該酵母細胞が、二糖類及び/または三糖類を資化することができることである。よって、二糖類及び/または三糖類を含有する培地においてインキュベーションすれば、当該酵母細胞は、当該二糖類及び/または三糖類の少なくとも一部を除去することができる。

30

【0104】

より好ましくは、当該特性IXは、当該酵母細胞が、二糖類及び/または三糖類を唯一の炭素源として資化することができることである。よって、当該酵母細胞は、二糖類及び/または三糖類を唯一の炭素源として含有している培地で成長することができる。そのような培地は、好ましくは、二糖類及び/または三糖類以外のいかなる糖類も含んでいない。

40

【0105】

当該特性IXは、当該酵母細胞が、任意の二糖及び三糖を唯一の炭素源として資化することができることであり得る。しかしながら、当該酵母が、1つ以上の特定の二糖類及び/三糖類だけを唯一の炭素源として資化することもできる。上記のように、当該酵母細胞が、イソマルトース(特性I)、パノース(特性II)、及び/または、メリビオース(特性VII)を資化することができるのが好ましい。

【0106】

よって、当該特性IXは、好ましくは、当該酵母細胞が、イソマルトース、パノース、または、メリビオースではない、1つ以上の二糖及び/または三糖を資化することができ

50

る、ことである。よって、当該特性ⅠⅩは、当該酵母細胞が、イソマルトース、パノース、または、メリビオースに加えて、1つ以上の二糖類及び/または三糖類を資化することができることであり得る。よって、当該酵母細胞は、イソマルトース、パノース、または、メリビオースではない、1つ以上の二糖及び/または三糖を唯一の炭素源として資化することができ得、加えて、当該酵母細胞は、特性Ⅰ、ⅠⅠまたはⅤⅠⅠⅠの1つ以上を有することができる。

【0107】

特性ⅠⅩが、当該酵母細胞が、コージビオース、ニゲロース、スクロース、ツラノース、ロイクロース、及び、パラチノースからなる群から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つなど、例えば、少なくとも3つ、少なくとも4つなど、例えば、少なくとも5つ、それらすべての二糖類を唯一の炭素源として資化できることであるのが好ましい。

10

【0108】

特性ⅠⅩが、当該酵母細胞が、マルトトリオース及び/またはイソマルトトリオースを唯一の炭素源として資化できることであるのも好ましい。

【0109】

よって、当該酵母細胞は、マルトトリオースを唯一の炭素源として資化することができ得る。よって、当該酵母細胞は、マルトトリオースを唯一の炭素源として含有している培地で成長することができ得る。そのような培地は、好ましくは、マルトトリオース以外のいかなる単糖類及び/または二糖類及び/または三糖類も含んでおらず、及び、より好ましくは、このような培地は、マルトトリオース以外のいかなる炭水化物も含んでいない。

20

【0110】

特に、特性ⅠⅩは、当該酵母細胞が、1~5 g/Lの範囲、例えば、1~3 g/Lの範囲、2 g/Lなどのマルトトリオースを唯一の炭素源として含有している培地で成長することができる、としてもよい。そのような培地は、好ましくは、上記の濃度のマルトトリオース以外のいかなる炭水化物も含んでいない。

【0111】

多くの酵母細胞、例えば、多くのラガー酵母細胞は、マルトトリオースを唯一の炭素源として資化することができず、特に、マルトトリオースが低レベルでのみ存在している場合には、多くのラガー酵母細胞は、マルトトリオースを唯一の炭素源として資化することができない。

30

【0112】

当該酵母細胞は、マルツロースを唯一の炭素源として資化することができ得る。よって、当該酵母細胞は、マルツロースを唯一の炭素源として含有している培地で成長することができ得る。そのような培地は、好ましくは、マルツロース以外のいかなる単糖類及び/または二糖類も含んでおらず、及び、より好ましくは、このような培地は、マルツロース以外のいかなる炭水化物も含んでいない。

【0113】

特に、特性ⅠⅩは、当該酵母細胞が、1~5 g/Lの範囲、例えば、1~3 g/Lの範囲、2 g/Lなどのマルツロースを唯一の炭素源として含有している培地で成長することができることであり得る。そのような培地は、好ましくは、上記の濃度のマルツロース以外のあらゆる炭水化物を含んでいない。

40

【0114】

多くの酵母細胞、例えば、多くのラガー酵母細胞は、マルツロースを唯一の炭素源として資化することができない。

【0115】

当該酵母細胞は、コージビオースを唯一の炭素源として資化することができ得る。よって、当該酵母細胞は、コージビオースを唯一の炭素源として含有している培地で成長することができ得る。そのような培地は、好ましくは、コージビオース以外のいかなる単糖類及び/または二糖類も含んでおらず、及び、より好ましくは、このような培地は、コージビオース以外のいかなる炭水化物も含んでいない。

50

## 【0116】

特に、特性IXは、当該酵母細胞が、1～5 g/Lの範囲、例えば、1～3 g/Lの範囲、2 g/Lなどのコージビオースを唯一の炭素源として含有している培地で成長することができるとしてもよい。そのような培地は、好ましくは、上記の濃度のコージビオース以外のいかなる炭水化物を含んでいない。

## 【0117】

多くの酵母細胞、例えば、多くのラガー酵母細胞は、コージビオースを唯一の炭素源として資化することはできない。

## 【0118】

よって、本願発明の酵母細胞は、表13に記載の1つ以上の二糖類及び/または三糖類を資化することができ得る。

## 【0119】

## 【表13 - 1】

表13

基質	結合
二糖類(Glc→Glu)	
コージビオース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→2)- $\alpha$ -D-グルコース
ニゲロース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→3)- $\alpha$ -D-グルコース
イソマルトース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→6)- $\alpha$ -D-グルコース
二糖類(Glc→Fru)	
スクロース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→2)- $\beta$ -D-フルクトース
ツラノース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→3)-D-フルクトース
マルツロース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→4)-D-フルクトース
ロイクロース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→5)-D-フルクトース
パラチノース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→6)-D-フルクトース
三糖類	
マルトトリオース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→4)- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→4)-D-グルコース
イソマルトトリオース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→6)- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→6)-D-グルコース
パノース	O- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→6)- $\alpha$ -D-グルコシル-(1→4)-D-グルコース

## 【0120】

酵母細胞が、二糖類及び/または三糖類を資化できるかどうかを決定するための有用な方法が、後出の実施例8及び11において記載されている。酵母細胞が、二糖類及び/または三糖類を唯一の炭素源として資化できるかどうかを決定するための有用な方法が、後出の実施例5において記載されている。実施例5に記載の方法が、そこで試験をしたパノース/イソマルトースを二糖及び/または三糖に交換することで、あらゆる二糖及び/または三糖が、唯一の炭素源として資化可能かどうかを検証するために使用できることは、当業者であれば理解でき得るであろう。

## 【0121】

10

20

30

40

50

特性ⅠⅩを有する酵母細胞は、好ましくは、遺伝子型ⅠⅤ、Ⅴ及びⅤⅠの1つ以上も有しており、より好ましくは、後述するように、遺伝子型ⅠⅤ、Ⅴ及びⅤⅠのすべても有する。

【0122】

特性Ⅹ

本願発明の酵母細胞は、当該特性Ⅹを有することができ、特性Ⅹは、当該酵母細胞が、懸濁液に僅かな数の細胞しか有していないことであり、特に、当該酵母細胞が、容器内の液体培地でインキュベーションした後に、懸濁液に僅かな数の細胞しか有していないことである。当該インキュベーションとは、好ましくは、1~14日間、2~10日間、例えば、4~8日間、例えば、4~6日間のインキュベーションである。

10

【0123】

特に、特性Ⅹを、当該酵母細胞の成長が許容される条件下で4日間のインキュベーションを行った後に、多くとも1,000万個の細胞/mlなど、多くとも1,200万個の細胞/mlが懸濁している、とすることが好ましい。よって、特性Ⅹは、当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、4日間、インキュベーションされる場合に、多くとも1,000万個の細胞/mlなど、多くとも1,200万個の細胞/mlが懸濁していることであることができる。特性Ⅹを、当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、5日間、インキュベーションされる場合に、多くとも1,000万個の細胞/mlなど、多くとも1,200万個の細胞/mlが懸濁している、とすることもできる。特性Ⅹを、当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、6日間、インキュベーションされる場合に、多くとも1,000万個の細胞/mlなど、多くとも1,200万個の細胞/mlが懸濁している、とすることもできる。当該インキュベーションは、例えば、10~20の範囲、10~18の範囲など、例えば、16または18の温度で行うことができる。酵母細胞の出発濃度を、例えば、1,000万個~2,000万個の細胞/mlの範囲、例えば、1,400万個~1,500万個の細胞/mlであることができる。

20

【0124】

特性Ⅹを、当該酵母細胞が、1mlの懸濁液につきある数の細胞を含んでおり、それは、当該細胞の成長が許容される条件下で、5日間など、4~6日間のインキュベーションを行った後の出発細胞数/mlの多くとも80%、多くとも70%など、例えば、多くとも60%、多くとも50%など、例えば、多くとも40%である、とすることも好ましくあり得る。

30

【0125】

例えば、特性Ⅹを、当該酵母細胞が、1mlの懸濁液につきある数の細胞を含んでおり、それは、少なくとも10度のプラート糖含量を有する麦汁組成物において、5日間など、4~6日間のインキュベーションを行った後の出発細胞数/mlの多くとも80%、多くとも70%など、例えば、多くとも60%、多くとも50%など、例えば、多くとも40%である、とすることもできる。特性Ⅹを、当該酵母細胞が、1mlの懸濁液につき多数の細胞を含んでおり、それは、少なくとも10度のプラート糖含量を有する麦汁組成物において、6日間のインキュベーションを行った後の出発細胞数/mlの多くとも80%、多くとも70%など、例えば、多くとも60%、多くとも50%など、例えば、多くとも40%である、とすることもできる。当該インキュベーションは、例えば、15~20の範囲、10~18の範囲など、例えば、16または18の温度で行うことができる。

40

【0126】

1つの実施形態において、特性Ⅹは、当該酵母細胞の成長が許容される条件下で7日間のインキュベーションを行った後に、多くとも2,500万個の細胞/ml、好ましくは、多くとも2,000万個の細胞/mlが懸濁していることである。よって、特性Ⅹは、当該酵母細胞が、少なくとも10度のプラート糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、

50

そして、18 で、7日間のインキュベーションを行った場合に、多くとも2,500万個の細胞/ml、好ましくは、多くとも2,000万個の細胞/mlが懸濁している、とすることができる。

【0127】

懸濁液での細胞を決定するための有用な方法が、後出の実施例2において記載されている。

【0128】

特性XI

本願発明の酵母細胞は、特性XIを有することができ、特性XIは、当該酵母細胞が、長くとも4日間の一次発酵の時間で、麦汁を発酵することができることである。

10

【0129】

本願発明の好適な実施形態において、当該特性XIは、当該酵母細胞が、長くとも3.5日の間の一次発酵で、麦汁を発酵することができることである。

【0130】

本願発明の別の実施形態において、当該特性XIは、当該酵母細胞が、長くとも3日間一次発酵で、麦汁を発酵することができることである。

【0131】

当該特性XIは、当該酵母細胞が、少なくとも1つの親株による同じ条件下での一次発酵の時間よりも少なくとも1日短い一次発酵の時間で、麦汁を発酵することができることとすることもできる。よって、本願発明の酵母細胞は、少なくとも1つの親株による同じ条件下での一次発酵の時間よりも少なくとも1日短い一次発酵の時間で、麦汁を発酵することができるハイブリッド酵母細胞であり得る。特に、本願発明の酵母細胞は、親の*S. pastorianus*株と親の*S. cerevisiae*株との間のハイブリッドとすることができる。かような実施形態において、当該酵母細胞は、少なくとも1つの親の*S. pastorianus*株による同じ条件下での一次発酵の時間よりも少なくとも1日短い一次発酵の時間で、麦汁を発酵することができ得る。

20

【0132】

当該麦汁は、任意の標準的な麦汁でもよいが、好ましくは、少なくとも10度のプラート糖含量を有する麦汁である。よって、当該麦汁は、特に、10度のプラート~20度のプラートの範囲の糖含量を有する麦汁であり得る。特に、当該麦汁は、14~16度のプラート糖含量を有する麦汁であり得る。

30

【0133】

「一次発酵の時間」という用語は、酵母で麦汁をピッチングしてから、一次発酵が完了するまでの時間のことである。外観エキス濃度が安定した時、及び/または、活発な二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)の放出が認められなくなった時に、一次発酵が完了したものとみなされる。二つの測定の間で、外観エキス濃度が、±15%を超えて、好ましくは、±10%を超えて変化を示さない場合に、外観エキス濃度が安定しているとみなされる。

【0134】

酵母は、任意の有用なレベル、例えば、1,000万個~2,000万個の生細胞/ml、1,300万個~1,600万個の生細胞/mlなど、例えば、1,400万個~1,500万個の生細胞/mlでピッチングすることができる。

40

【0135】

一次発酵の時間は、当該酵母細胞が成長できる温度で決定することができる。よって、一次発酵の時期は、10~25の範囲の温度、好ましくは、12~20の範囲の温度、例えば、14~18の範囲で決定することができる。

【0136】

一次発酵の時間を決定するための有用な1つの方法が、後出の実施例3において記載されている。

【0137】

遺伝的背景

50

本願発明の酵母細胞は、上記の特性 I ~ X I の 1 つ以上を有することができる。

【 0 1 3 8 】

当該特性に加えて、本願発明の酵母細胞は、後述する遺伝子型 I ~ V I の 1 つ以上を有することができる。当該遺伝子型は、先に概説した当該特性と関連付けてもよい。

【 0 1 3 9 】

1 つの実施形態において、本願発明の酵母細胞は、少なくとも後述の遺伝子型 I V を有することができる。遺伝子型 I V を有することに加えて、当該酵母は、遺伝子型 I、I I、I I I、V、V I の 1 つ以上と、当該特性 I ~ X I の 1 つ以上とを有することもできる。

【 0 1 4 0 】

よって、本願発明の 1 つの実施形態において、当該酵母細胞は、少なくとも下記の遺伝子型 I V と下記の遺伝子型 V とを有する。遺伝子型 I V 及び V を有することに加えて、当該酵母は、遺伝子型 I、I I、I I I、V I の 1 つ以上と、当該特性 I ~ X I の 1 つ以上とを有することもできる。

【 0 1 4 1 】

よって、本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I 及び I I を有することができる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I 及び I I I を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I 及び I V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I 及び V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I 及び V I を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I、I I 及び I I I を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I、I I 及び I V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I、I I 及び V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I、I I、I I I 及び I V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I、I I、I I I 及び V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I、I I、I I I、I V 及び V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I、I I、I I I、I V 及び V I を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I、I I、I I I、I V、V 及び V I を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I I 及び I I I を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I I 及び I V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I I、I I I 及び V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I I、I I I 及び V I を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I I、I I I、I V 及び V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I I、I I I、I V 及び V I を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I I、I I I、I V、V 及び V I を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I V 及び V を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I V、V 及び V I を有することもできる。本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 V 及び V I を有することもできる。

【 0 1 4 2 】

本願発明の好適な実施形態において、当該酵母細胞は、遺伝子型 I、I I、I I I、I V、V 及び V I のすべてを有する。

【 0 1 4 3 】

10

20

30

40

50

本願発明の1つの実施形態において、本願発明の酵母細胞は、DDBJ/EMBL/GenBank受託番号LOQJ00000000で入手可能なゲノムDNA配列、特に、DDBJ/EMBL/GenBank受託番号LOQJ00000000、バージョンLOQJ01000000で入手可能なDNA配列を含む酵母細胞であることができる。この配列は、ホールゲノムショットガンプロジェクトとして提供されており、この配列に関する詳細は、後出の実施例に提供されている。

【0144】

本願発明の別つの実施形態において、本願発明の酵母細胞は、DDBJ/EMBL/GenBank受託番号LOQJ00000000で入手可能なゲノムDNA配列、特に、DDBJ/EMBL/GenBank受託番号LOQJ00000000、バージョンLOQJ01000000で入手可能なDNA配列を含む酵母細胞であることができる。この配列は、ホールゲノムショットガンプロジェクトとして提供されており、この配列に関する詳細は、後出の実施例に提供されている。

10

【0145】

本明細書で示したゲノム配列に基づいて、合成酵母染色体を調製することができる。このことは、例えば、2014年のNatureでのCallaway(Nature DOI: doi:10.1038/nature.2014.14941)、またはAnnaluru et al., Science 2014年4月4日: Vol.344 no. 6179 pp.55-58 (DOI: 10.1126/science.1249252)で記載されたようにして、実施することができる。また、「Synthetic Yeast 2.0」は、合成酵母染色体を調製するための手法に関する情報を提供している(例えば、<http://syntheticyeast.org/>を参照されたい)。当該合成酵母染色体を含む酵母細胞は、従来の組換え技術を用いて調製することができる。

20

【0146】

遺伝子型I

本願発明の酵母細胞は、遺伝子型Iを有することができ、当該遺伝子型Iは、DAL5をコードする遺伝子の存在である。特に、本願発明の酵母細胞が、配列番号6のDAL5、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体ををコードする遺伝子を含むことが好ましい。好ましくは、当該遺伝子型Iは、配列番号6のDAL5をコードする遺伝子の存在のことである。

30

【0147】

本願発明の1つの実施形態において、当該遺伝子型Iは、DAL5をコードする少なくとも1つの対立遺伝子の存在であり、DAL5をコードする当該対立遺伝子は、配列番号6のDAL5、配列番号39のDAL5、配列番号40のDAL5、及び、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を上記の配列と共有する、それらの機能的相同体からなる群から選択されるDAL5をコードする。

【0148】

1つの実施形態において、当該遺伝子型Iは、以下の2つの対立遺伝子の存在であることができる：

40

- 1) 配列番号39のDAL5、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号40のDAL5、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子。

【0149】

DAL5は、非N末端則によってジペプチド類を輸送するジペプチド輸送体である。当該酵母細胞は、例えば、本願発明の実施形態において、遺伝子型Iを有することができ、

50

そこで当該酵母細胞は、特性 I I I、I V 及び/または V I を有し、特に、当該酵母細胞は、特性 I I I を有している。

【 0 1 5 0 】

遺伝子型 I I

本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I I を有することができ、当該遺伝子型 I I は、P T R 2 をコードする少なくとも 3 つの遺伝子の存在である。特に、本願発明の酵母細胞は、P T R 2 をコードする少なくとも 3 つの遺伝子を含むことが好ましく、P R T 2 は、配列番号 7 の P T R 2、配列番号 8 の P T R 2、配列番号 9 の P R T 2、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらの各々の機能的相同体からなる群から選択される。

10

【 0 1 5 1 】

よって、当該遺伝子型 I I I は、当該酵母細胞が、以下からなる群から選択される 3 つの遺伝子を含むことであり得る：

- 1) 配列番号 7 の P R T 2、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を各当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子、
- 2) 配列番号 8 の P R T 2、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を各当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 3) 配列番号 9 の P R T 2、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を各当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子。

20

【 0 1 5 2 】

よって、当該遺伝子型 I I は、当該酵母細胞が、以下の群から選択される 3 つの遺伝子を含むことであり得る：

- 1) 配列番号 7 の P R T 2、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を各当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子、
- 2) 配列番号 8 の P R T 2、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を各当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 3) 配列番号 9 の P R T 2、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を各当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子。

30

【 0 1 5 3 】

よって、当該遺伝子型 I I I は、当該酵母細胞が、

- 1) 配列番号 7 の P R T 2 をコードする遺伝子、
- 2) 配列番号 8 の P R T 2 をコードする遺伝子、及び
- 3) 配列番号 9 の P R T 2 をコードする遺伝子、

40

からなる群から選択される 3 つの遺伝子を含むことであり得る。

【 0 1 5 4 】

1 つの実施形態において、遺伝子型 I I は、当該酵母細胞が、P T R 2 をコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子を含むことであることができる。例えば、遺伝子型 I I は、当該酵母細胞が、配列番号 7 の P T R 2、配列番号 8 の P T R 2、配列番号 9 の P R T 2、配列番号 3 7 の P R T 2、配列番号 3 8 の P R T 2、配列番号 4 3 の P R T 2、配列番号 4 4 の P R T 2、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を当該配列と共有する、上記の各々の機能的相同体、からなる群から選択される P T R 2 を各々がコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子を含むことであることができる。

50

## 【 0 1 5 5 】

1つの実施形態において、当該遺伝子型 I I は、当該酵母細胞が、以下の2つの対立遺伝子を含むことができる：

- 1) 配列番号37のP R T 2、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子、
- 2) 配列番号38のP R T 2、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子。

## 【 0 1 5 6 】

1つの実施形態において、当該遺伝子型 I I は、当該酵母細胞が、以下の2つの対立遺伝子を含むことであることができる：

- 1) 配列番号43のP R T 2、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子、
- 2) 配列番号44のP R T 2、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子。

## 【 0 1 5 7 】

P R T 2 は、ジペプチド類及びトリペプチド類ならびに他のペプチド類を、当該酵母細胞へ届けるための輸送体である。

## 【 0 1 5 8 】

当該酵母細胞は、例えば、本願発明の実施形態において遺伝子型 I I を有することができる、当該酵母細胞は、特性 I I I、I V 及び/または V を有しており、当該酵母細胞が、特性 I I I 及び/または I V を有している実施形態においてなどである。

## 【 0 1 5 9 】

遺伝子型 I I I

本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I I I を有することができ、当該遺伝子型 I I I は、U B R 1 をコードする遺伝子の存在である。特に、本願発明の酵母細胞が、配列番号10を含むU B R 1、または、配列番号11のU B R 1、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を上記の配列と共有する、それらの機能的相同体をコードする遺伝子を含む、ことが好ましい。好ましくは、当該遺伝子型 I I I は、配列番号10を含むU B R 1、または、配列番号11のU B R 1、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体をコードする少なくとも2つの遺伝子の存在である。

## 【 0 1 6 0 】

例えば、当該遺伝子型 I I I は、以下の2つの遺伝子の存在であることができる：

- 1) 配列番号10、または、配列番号45、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体を含むU B R 1 をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号11、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体のU B R 1 をコードする遺伝子。

## 【 0 1 6 1 】

特に、当該遺伝子型 I I I は、以下の2つの遺伝子の存在であることができる：

- 1) 配列番号10を含むU B R 1 をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号11のU B R 1 をコードする遺伝子。

10

20

30

40

50

## 【0162】

当該酵母細胞は、例えば、本願発明の実施形態において遺伝子型 I I I を有することができ、当該酵母細胞は、特性 I I I 及び/または I V を有している。

## 【0163】

本願発明の1つの実施形態において、遺伝子型 I I I は、当該酵母細胞が、配列番号 10 を含む U B R 1、配列番号 11 の U B R 1、配列番号 41 を含む U B R 1、配列番号 42 の U B R 1、配列番号 45 を含む U B R 1、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体からなる群から選択される U B R 1 をコードする少なくとも1つの対立遺伝子を含むことである。

10

## 【0164】

本願発明の1つの実施形態において、遺伝子型 I I I は、当該酵母細胞が、配列番号 10 を含む U B R 1、配列番号 11 の U B R 1、配列番号 41 を含む U B R 1、配列番号 42 の U B R 1、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体からなる群から選択される U B R 1 を各々がコードする少なくとも2つの対立遺伝子を含むことである。

## 【0165】

例えば、当該遺伝子型 I I I は、以下の2つの遺伝子の存在であることができる：

- 1) 配列番号 41、または、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体を含む U B R 1 をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号 42、または、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を当該配列と共有する、それらの機能的相同体の U B R 1 をコードする遺伝子。

20

## 【0166】

当該酵母細胞は、例えば、本願発明の実施形態において遺伝子型 I I I を有することができ、当該酵母細胞は、特性 I I I 及び/または I V を有しており、当該酵母細胞が、特性 I I I、I V 及び/または V を有している実施形態においてなどである。

## 【0167】

遺伝子型 I V

本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 I V を有することができ、当該遺伝子型 I V は、I M A 1 p をコードする少なくとも3つの対立遺伝子、好ましくは、少なくとも4つの対立遺伝子の存在である。特に、本願発明の酵母細胞は、配列番号 12 の I M A 1 p、配列番号 13 の I M A 1 p、配列番号 14 の I M A 1 p、配列番号 15 の I M A 1 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される I M A 1 p をコードする少なくとも4つの対立遺伝子を含む、ことが好ましい。

30

## 【0168】

I M A 1 p は、異なる対立遺伝子によって、例えば、I M A 1 の短い対立遺伝子によって、あるいは、I M A 1 の長い対立遺伝子によってコードされることができる。1つの酵母細胞が、I M A 1 の長い対立遺伝子と短い対立遺伝子の双方を含むことができる。1つの実施形態において、本願発明の酵母細胞は、I M A 1 p をコードする少なくとも3つの長い対立遺伝子を含むことが、好ましくあり得る。

40

## 【0169】

例えば、当該遺伝子型 I V は、I M A 1 の少なくとも2つの短い対立遺伝子の存在であることができる。I M A 1 の2つの当該短い対立遺伝子は、配列番号 12 の I M A 1 p、配列番号 13 の I M A 1 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列

50

と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される IMA 1 p をコードする遺伝子であることができる。

【0170】

好ましい実施形態において、当該遺伝子型 IV は、IMA 1 の少なくとも 3 つの短い対立遺伝子の存在であることができる。IMA 1 の 3 つの当該短い対立遺伝子は、配列番号 12 の IMA 1 p、配列番号 13 の IMA 1 p、配列番号 1 の IMA 1 p、配列番号 2 の IMA 1 p、配列番号 3 の IMA 1 p、配列番号 4 の IMA 1 p、配列番号 5 の IMA 1 p、配列番号 33 の IMA 1 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される IMA 1 p をコードする対立遺伝子であることができる。

10

【0171】

例えば、当該遺伝子型 IV は、IMA 1 の少なくとも 2 つの長い対立遺伝子の存在であることができる。IMA 1 の 2 つの当該長い対立遺伝子は、配列番号 14 の IMA 1 p、配列番号 15 の IMA 1 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される IMA 1 p をコードする遺伝子であることができる。

【0172】

1 つの実施形態において、当該遺伝子型 IV は、IMA 1 の少なくとも 3 つの長い対立遺伝子の存在であることができる。IMA 1 の 3 つの当該長い対立遺伝子は、配列番号 21 の IMA 1 p、配列番号 22 の IMA 1 p、配列番号 3 の IMA 1 p、配列番号 24 の IMA 1 p、配列番号 25 の IMA 1 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される IMA 1 p をコードする遺伝子であることができる。

20

【0173】

好ましい実施形態において、当該遺伝子型 IV は、IMA I の少なくとも 3 つの短い対立遺伝子と IMA 1 の少なくとも 2 つの長い対立遺伝子の存在であることができ、ここで

30

a) IMA 1 の 3 つの当該短い対立遺伝子は、個別に、配列番号 12 の IMA 1 p、配列番号 13 の IMA 1 p、配列番号 1 の IMA 1 p、配列番号 2 の IMA 1 p、配列番号 3 の IMA 1 p、配列番号 4 の IMA 1 p、配列番号 5 の IMA 1 p、配列番号 33 の IMA 1 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される IMA 1 p をコードする遺伝子であり、及び、

b) IMA 1 の 2 つの当該長い対立遺伝子は、個別に、配列番号 14 の IMA 1 p、配列番号 15 の IMA 1 p、配列番号 21 の IMA 1 p、配列番号 22 の IMA 1 p、配列番号 23 の IMA 1 p、配列番号 24 の IMA 1 p、配列番号 25 の IMA 1 p、及び、

40

【0174】

1 つの実施形態において、当該遺伝子型 IV は、当該酵母細胞が、IMA 1 p をコードする少なくとも 5 つの対立遺伝子を含み、当該対立遺伝子が、個別に、配列番号 1 の IMA 1 p、配列番号 2 の IMA 1 p、配列番号 3 の IMA 1 p、配列番号 4 の IMA 1 p、配列番号 5 の IMA 1 p、配列番号 12 の IMA 1 p、配列番号 13 の IMA 1 p、配列番号 14 の IMA 1 p、配列番号 15 の IMA 1 p、配列番号 21 の IMA 1 p、配列番号 22 の IMA 1 p、配列番号 23 の IMA 1 p、配列番号 24 の IMA 1 p、配列番号

50

25のIMA1p、及び、配列番号33のIMA1pをコードする遺伝子からなる群から選択されることであることができる。

【0175】

1つの実施形態において、当該遺伝子型IVは、当該酵母細胞が、以下の4つの対立遺伝子を含むことであることができる：

- 1) 配列番号12のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号13のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 3) 配列番号14のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 4) 配列番号15のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

10

【0176】

1つの実施形態において、当該遺伝子型IVは、以下の4つの対立遺伝子の存在であることができる：

20

- 1) 配列番号12のIMA1pをコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号13のIMA1pをコードする遺伝子、及び
- 3) 配列番号14のIMA1pをコードする遺伝子、及び
- 4) 配列番号15のIMA1pをコードする遺伝子。

【0177】

1つの実施形態において、当該遺伝子型IVは、以下の3つの対立遺伝子の存在であることができる：

- 1) 配列番号21のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体の双方をコードする2つの遺伝子、及び
- 2) 配列番号22のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

30

【0178】

1つの実施形態において、当該遺伝子型IVは、以下の3つの対立遺伝子の存在であることができる：

- 1) 配列番号23のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号24のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 3) 配列番号25のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

40

【0179】

1つの実施形態において、当該遺伝子型IVは、以下の5つの対立遺伝子の存在であることができる：

- 3) 配列番号12のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を

50

当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

4) 配列番号13のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

5) 配列番号1のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

6) 配列番号14のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

7) 配列番号15のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

【0180】

1つの実施形態において、当該遺伝子型IVは、以下の6つの対立遺伝子の存在であることができる：

1) 配列番号2のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

2) 配列番号3のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする少なくとも2つの遺伝子、及び

3) 配列番号21のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする少なくとも2つの遺伝子、及び

4) 配列番号22のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

【0181】

1つの実施形態において、当該遺伝子型IVは、以下の6つの対立遺伝子の存在であることができる：

1) 配列番号5のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

2) 配列番号33のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする少なくとも2つの遺伝子、及び

3) 配列番号4のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする少なくとも2つの遺伝子、及び

4) 配列番号24のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

5) 配列番号23のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする少なくとも2つの遺伝子、及び

6) 配列番号25のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

【0182】

当該酵母細胞は、例えば、本願発明の実施形態において遺伝子型 I V を有することができ、当該酵母細胞は、特性 I、I I、I X 及び/または X I を有する。

【 0 1 8 3 】

遺伝子型 V

本願発明の酵母細胞は、遺伝子型 V を有することができ、当該遺伝子型 V は、I M A 5 p をコードする遺伝子の存在である。当該遺伝子型 V は、I M A 5 p をコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子の存在であることもできる。特に、本願発明の酵母細胞が、配列番号 1 6 の I M A 5 p、配列番号 1 7 の I M A 5 p、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される I M A 5 p をコードする少なくとも 1 つの対立遺伝子を含むことが好ましい。好ましくは、当該遺伝子型 V は、配列番号 1 6 の I M A 5 p、配列番号 1 7 の I M A 5 p、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される I M A 5 p をコードする少なくとも 2 つの遺伝子の存在であることもできる。

10

【 0 1 8 4 】

1 つの実施形態において、当該酵母細胞は、配列番号 1 6 の I M A 5 p、配列番号 1 7 の I M A 5 p、配列番号 3 4 の I M A 5 p、配列番号 3 5 の I M A 5 p、配列番号 3 6 の I M A 5 p、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体をコードする対立遺伝子からなる群から個別に選択される、I M A 5 p をコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子を含む。

20

【 0 1 8 5 】

特に、当該遺伝子型 V は、当該酵母細胞が、以下の 2 つの対立遺伝子を含むことであることができる：

- 1) 配列番号 1 6 の I M A 5 p、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号 1 7 の I M A 5 p、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

30

【 0 1 8 6 】

1 つの実施形態において、当該遺伝子型 V は、当該酵母細胞が、以下の 3 つの対立遺伝子

を含むことであることができる：

- 1) 配列番号 1 6 の I M A 5 p、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号 1 7 の I M A 5 p、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 3) 配列番号 3 4 の I M A 5 p、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

40

【 0 1 8 7 】

1 つの実施形態において、当該遺伝子型 V は、当該酵母細胞が、以下の 2 つの対立遺伝子を含むことであることができる：

- 1) 配列番号 3 5 の I M A 5 p、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を

50

当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

2) 配列番号36のIMA5p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

【0188】

特に、当該遺伝子型Vを、以下の2つの遺伝子の存在であることができる：

- 1) 配列番号16のIMA5pをコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号17のIMA5pをコードする遺伝子。

【0189】

当該酵母細胞は、例えば、本願発明の実施形態において遺伝子型Vを有することができ、当該酵母細胞は、特性I、II、IX及び/またはXIを有する。

10

【0190】

遺伝子型VI

本願発明の酵母細胞は、遺伝子型VIを有することができ、当該遺伝子型VIは、AGT1をコードする少なくとも3つの対立遺伝子の存在である。特に、本願発明の酵母細胞が、配列番号18のAGT1、配列番号19のAGT1、配列番号20のAGT1、配列番号26のAGT1、配列番号27のAGT1、配列番号28のAGT1、配列番号29のAGT1、配列番号30のAGT1、配列番号31のAGT1、配列番号32のAGT1、及び、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択されるAGT1をコードする少なくとも3つの対立遺伝子を含むことが好ましい。

20

【0191】

1つの実施形態において、当該酵母細胞は、当該遺伝子型VIを有することができ、ここで当該遺伝子型VIは、全長AGT1をコードする少なくとも2つの対立遺伝子の存在である。特に、本願発明の酵母細胞は、配列番号18のAGT1、配列番号19のAGT1、配列番号20のAGT1、配列番号27のAGT1、配列番号28のAGT1、配列番号30のAGT1、配列番号31のAGT1、配列番号32のAGT1、及び、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択されるAGT1をコードする少なくとも2つの対立遺伝子を含むことが好ましい。

30

【0192】

1つの実施形態において、当該遺伝子型VIは、当該酵母細胞が、以下の3つの対立遺伝子を含むことであることができる：

- 1) 配列番号18のAGT1、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号19のAGT1、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 3) 配列番号20のAGT1、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

40

【0193】

特に、当該遺伝子型VIは、以下の3つの遺伝子の存在であることができる：

- 1) 配列番号18のAGT1をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号19のAGT1をコードする遺伝子、及び
- 3) 配列番号20のAGT1をコードする遺伝子。

【0194】

50

1つの実施形態において、当該遺伝子型VIは、当該酵母細胞が、以下の2つの遺伝子を含むことであることができる：

- 1) 配列番号27のAGT1、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号28のAGT1、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

【0195】

1つの実施形態において、当該遺伝子型VIは、当該酵母細胞が、AGT1をコードする以下の3つの対立遺伝子を含むことであることができる：

- 1) 配列番号30のAGT1、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 2) 配列番号31のAGT1、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び
- 3) 配列番号32のAGT1、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を当該配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

【0196】

当該酵母細胞は、例えば、本願発明の実施形態において遺伝子型VIを有することができる、当該酵母細胞は、特性I、II、IX及び/またはXIを有する。

【0197】

機能的相同体

本明細書において使用する「機能的相同体」という用語は、参照ポリペプチドと少なくとも1つの生物学的機能を共有するポリペプチド類のことを指す。一般的に、当該機能的相同体は、参照ポリペプチドと有意の配列同一性も共有する。好ましくは、参照ポリペプチドの機能的相同体は、参照タンパク質と同じ生物学的機能を有し、かつ、参照ポリペプチドと高レベルでの配列同一性を共有するポリペプチドである。

【0198】

高レベルでの配列同一性は、第1の配列が第2の配列から誘導される可能性の高さを示す。アミノ酸配列の同一性は、整列した2つの配列の間において同じアミノ酸配列を必要とする。よって、参照配列と80%アミノ酸同一性を共有する候補配列は、アライメントに続いて、当該候補配列でのアミノ酸の80%が、本願発明による参照配列同一性における対応するアミノ酸と同一であることが、ClustalWコンピューターアライメントプログラム(Higgins D., Thompson J., Gibson T., Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22:4673-4680)や、そこで示唆されたデフォルトパラメーターなどであるが限定されないコンピューター分析の助けを借りて決定される。このClustalWソフトウェアは、European Bioinformatics InstituteのClustalW WWWサービス <http://www.ebi.ac.uk/clustalw> から入手できる。このプログラムを、そのデフォルト設定と共に用いることで、クエリーの成熟(生物学的活性)箇所及び参照ポリペプチドが整列される。完全に保存されている残基の数が計数され、そして、当該参照ポリペプチドの長さで割られる。よって、配列同一性は、当該参照ポ

10

20

30

40

50

リペプチドの全長にわたって決定される。

【0199】

保存されたアミノ酸は、当該機能的相同体に保持されていることが好ましくあり得る。同様のポリペプチドのアライメントを用意し、及び、当該ポリペプチド類の間で保存されているアミノ酸残基を特定する当該アライメントを使用することによって、保存されたアミノ酸を特定することができる。有用なアライメントの実施例は、本願の図5～12に示されている。

【0200】

飲料を製造するための方法

飲料を製造するための方法を提供することが本願発明の一態様であり、当該方法は、  
VII. 出発液体を準備すること、  
IX. 本願発明の酵母細胞、例えば、上記の特性I～Xの1つ以上を有する酵母細胞を準備すること、  
X. 当該出発液体を、当該酵母細胞で発酵し、それにより、飲料を製造すること、  
のステップを含む。

10

【0201】

特に、当該出発液体は、麦汁などの穀類エキスであることができる。当該出発液体は、例えば、本節で説明するように、糖化、及び任意に麦汁ろ過を行うことによって、麦芽のエキスを調製することによって調製することができる。

【0202】

麦芽とは、麦芽処理された大麦粒のことである。「麦芽製造」という用語は、制御された環境条件下で進行するプロセスにおいて、浸漬した大麦粒が発芽し、乾燥ステップが続くことと理解される。当該乾燥ステップは、好ましくは、発芽した穀粒を、昇温下で、乾燥釜で乾燥する。

20

【0203】

上記の麦芽製造の一連の流れは、穀粒改質をもたらす無数の酵素の合成、主に死滅した内胚乳の細胞壁を分解して穀粒の栄養分を固定するプロセス、及び、他の分解酵素を活性化する上で重要である。後続の乾燥プロセスにおいて、化学的褐変反応によって、風味と色調が生成される。

【0204】

浸漬は、当業者に周知の任意の従来の方法で実施することができる。1つの非限定例では、10～25の範囲の温度で、乾燥及び湿潤の条件を交互に与える浸漬を含む。発芽は、当業者に周知の任意の従来の方法で実施することができる。1つの非限定例では、10～25の範囲の温度で、任意に、1～4時間の範囲で温度を変化させる発芽を含む。

30

【0205】

乾燥釜を用いた乾燥は、少なくとも75、例えば、80～90の範囲、80～85の範囲などの従来で実施することができる。よって、麦芽は、例えば、Briggs et al.(1981)及びHough et al.(1982)に記載された任意の方法で製造することができる。しかしながら、麦芽を製造するためのいかなる他の適切な方法も、本願発明で使用することができ、限定されないが、麦芽を焙煎する方法を含む、特別な麦芽を製造するための方法などがある。

40

【0206】

麦芽を、例えば、粉碎してさらに加工することができる。好ましくは、粉碎は、乾燥状態で行われ、すなわち、当該麦芽は乾燥状態である間に粉碎される。

【0207】

麦芽、例えば、粉碎麦芽は、糖化して、当該麦芽の水性エキスを調製することができる。飲料を調製するための当該出発液体を、麦芽の水性エキス、例えば、糖化によって調製された麦芽の水性エキスであることができる。

【0208】

よって、本願発明の飲料を調製するための方法は、麦芽及び任意で別の副原料を糖化し

50

て麦汁を製造するステップを含むことができる。当該糖化ステップは、任意に、麦汁ろ過を含むことができ、したがって、当該糖化ステップは、麦汁ろ過ステップを含む糖化ステップ、または、麦汁ろ過ステップを除外した糖化ステップであることができる。

#### 【0209】

一般的に、麦汁の製造は、麦芽及び/または大麦の粉碎から開始される。別の副原料が加えられる場合には、これらは、それらの性質に応じて粉碎することもできる。副原料が穀類である場合には、例えば、粉碎をすることができるが、シロップ、糖類などの場合には、一般的には、粉碎は行われない。粉碎をすることで、糖化段階での穀粒と水との接触が良好になる。麦芽製造の間に始まった基質の酵素分解を、糖化をおこなっている間に、継続することができる。

10

#### 【0210】

一般的に、麦汁は、粉碎麦芽と水とを混合して、かつ、インキュベーションをすることによって、すなわち、糖化プロセスにおいて、製造される。糖化を行っている間は、当該麦芽/液体組成物に、炭水化物が豊富な別の副原料組成物、例えば、粉碎した副原料の大麥、トウモロコシ、または、コメを補充することができる。麦芽処理されていない穀類副原料は、通常は、活性酵素をほとんど含んでおらず、あるいは、全く含んでいないので、麦芽または外因性酵素を補充して、多糖解重合などに必須の酵素を提供することが重要となる。

#### 【0211】

糖化の間、粉碎麦芽及び/または粉碎大麥、及び、任意に、さらなる副原料が、液体画分、水などと共に、インキュベーションされる。インキュベーション温度は、一般的には、一定温度を保つ(定温糖化)か、あるいは、徐々に昇温する、例えば、逐次的方法で昇温するかのいずれかである。いずれの事例でも、麦芽/大麥/副原料に含まれる可溶性物質は、当該液体画分へと遊離される。それに続く過は、麦汁と残留固形粒子との分離をもたらす、後者は、「ビール粕」とも呼ばれている。このようにして得られた麦汁は、「第1の麦汁」とも呼ばれることがある。さらなる液体、水などを、麦汁ろ過とも称されているプロセスの間に、当該ビール粕に対して加えることができる。麦汁ろ過を終えると、「第2の麦汁」を取得することができる。この手順を繰り返すことによって、さらなる麦汁を調製することができる。麦汁の調製のための適切な手順の例は、Briggs et al.(前出)及びHough et al.(前出)に記載されているが、これらに限定されない。

20

30

#### 【0212】

上記のように、当該麦汁組成物は、麦芽処理されていない大麥粒を糖化することによって、調製することができる。麦芽処理されていない大麥粒は、細胞壁を分解することができる酵素、または、デンプンを糖類へと解重合することができる酵素など、麦汁の生産に有用な酵素を含んでいないか、あるいは、ごくわずかな量しか含んでいない。よって、糖化のために麦芽処理されていない大麥が使用される本願発明の実施形態において、1つ以上の適切な外部醸造用酵素が、糖化液に加えられることが好ましい。適切な酵素として、リパーゼ、デンプン分解酵素(例えば、アミラーゼ)、グルカナーゼ[好ましくは、(1-4)-及び/もしくは(1-3, 1-4)- -グルカナーゼ]、ならびに/または、キシラナーゼ(アラビノキシラナーゼなど)、ならびに/もしくは、プロテアーゼ、または、上記の酵素の1つ以上、例えば、Cereflo、Ultraflo、または、Ondea Pro(Novozymes)を含む酵素混合物、などがある。

40

#### 【0213】

この麦汁組成物は、麦芽処理された大麥粒と麦芽処理されていない大麥粒の混合物を用いて調製することもでき、その場合、調製を行っている間に、1つ以上の適切な酵素を加えることができる。より具体的には、本願発明の大麥は、麦芽と一緒に、外部醸造用酵素と共に、または外部醸造用酵素無しで、糖化のために任意の組み合わせで使用ことができ、大麥:麦芽の比率として、約100:0、または、約75:25、または、約50:50、または、約25:75などがあるが、これらに限定されない。

50

## 【0214】

本願発明の他の実施形態において、外部酵素、特に、外部プロテアーゼ、及び/または、外部セルラーゼ、及び/または、外部 -アミラーゼ、及び/または、外部 -アミラーゼ、及び/または、外部マルトース生成 -アミラーゼを、糖化の前またはその間に加えないことが好ましい。

## 【0215】

糖化を終えて取得した麦汁は、「甘味麦汁」と称されることもある。従来の方法では、この甘味麦汁を、ホップと共に、あるいは、ホップを使わずに、煮沸が行われており、煮沸を終えたものは、煮沸麦汁と称されることもある。

## 【0216】

本明細書において使用する「約」という用語は、 $\pm 10\%$ 、好ましくは、 $\pm 5\%$ 、もっとより好ましくは、 $\pm 2\%$ のことを意味する。

## 【0217】

麦汁は、本願発明の酵母を用いて発酵に供する前に、加熱または煮沸することができる。第1、第2、及び、さらなる麦汁を組み合わせることができ、そうした後に、加熱または煮沸に供することができる。この麦汁は、任意の適切な時間、例えば、60分~120分の範囲内の時間をかけて加熱または煮沸することができる。

## 【0218】

よって、当該出発液体は、例えば、上記のように調製した麦汁であることができる。この飲料は、当該出発液体の発酵、例えば、麦汁の発酵によって調製することができる。

## 【0219】

当該飲料は、好ましい一実施形態において、麦芽飲料、さらにいっそう好ましくは、発酵飲料、発酵した麦芽飲料など、好ましくは、アルコール飲料、ビールなどであることができる。

## 【0220】

当該飲料は、ノンアルコール飲料、ノンアルコールビールなど、あるいは、他の種類のノンアルコール飲料、ノンアルコール麦芽飲料など、マルチナ(maltina)などであることができる。

## 【0221】

好ましい一実施形態において、当該飲料は、ビールであり、例えば、当該ビールは、ラガービールまたはエールビールであることができる。よって、当該ビールは、例えば、アルトビール、アンバーエール、パーレーワイン、ベルリーナーパイセ、ピエールドギャルド、ピター、ブロンドエール、ボック、ブラウンエール、カリフォルニアコモン、クリームエール、ドルトムンダーエクスポート、ドッペルボック、ダンケル、デュンケルパイツェン、アイスボック、フルーツアイアムピック、ゴールドエンエール、ゴーゼ、グーズ、ヘーフェパイツェン、ヘレス、インディアペールエール、ケルシュ、ランピック、ライトエール、メイボック、モルトリカー、マイルド、メルツェンビア、オールドエール、オードブライン、ペールエール、ピルスナー、ポーター、レッドエール、ロツゲンビア、セゾン、スコッチエール、スチームビール、スタウト、シュバルツビア、ラガー、ビィットビア、パイセビア、及びパイツェンボックからなる群から選択することができる。

## 【0222】

よって、本願発明は、  
 (i) 麦芽組成物を提供すること、  
 (ii) 当該麦芽組成物を飲料に加工すること、  
 のステップを含む、飲料を製造するための方法も提供する。

## 【0223】

一般的には、ビールなどのアルコール飲料は、麦芽処理された、及び/または麦芽処理されていない大麦粒から製造され得る。麦芽は、ホップと酵母に加えて、ビールの風味と色彩に寄与する。さらに、麦芽は、発酵可能な糖及び酵素の供給源として機能する。麦芽製造と醸造のための非限定の適切な方法の例は、Briggset al.(1981)及

10

20

30

40

50

びHough et al.(1982)の文献に見出される。大麦、麦芽、及びビール製品の分析のための多数の定期的に更新された方法を使用することができ、例えば、American Association of Cereal Chemists(1995)、American Society of Brewing Chemists(1992)、European Brewery Convention(1998)、及びInstitute of Brewing(1997)などがあるが、これらに限定されない。地域の消費者の好みに関する多大な変更を含めて所定の醸造を行うために、多くの特別な手順が利用されることが認識される。ビールを製造するためのそのような任意の方法を、本願発明で使用することができる。

【0224】

10

麦汁からビールを製造するための第1のステップには、好ましくは、本明細書において前述のように、当該麦汁を加熱することが含まれ、その後、麦汁の冷却の段階、及び任意に、ワールプールでの放置が続く。冷却を終えた後に、当該麦汁は、本願発明の酵母、すなわち、上述の特性I~Xの1つ以上を有する酵母が投入されている発酵タンクへと移される。当該麦汁は、任意の適切な期間、一般的には、1~100日間の範囲で発酵されることとなる。この発酵は、任意の適切な温度、例えば、1020の範囲で実施される。

【0225】

数日間の発酵プロセスを行っている間に、糖は、アルコール及びCO<sub>2</sub>(二酸化炭素)へと変換され、それに付随して、幾つかの風味物質も発生する。

20

【0226】

それに続いて、当該ビールを、さらなる加工処理、例えば、冷蔵することができる。良い香りを作り出し、かつ、酵母臭を除くプロセスである、ろ過及び/または低温発酵を行うこともできる。添加剤を加えることもできる。さらに、CO<sub>2</sub>を加えることもできる。最後に、ビールは、梱包(例えば、ビン詰めまたは缶充填)をする前に、低温殺菌、及び/または、ろ過することができる。

【0227】

一般的に、本願発明の酵母を用いて製造したビールは、他にはない良好な食味を呈する。例えば、専門職のビール食味検査パネルによって、食味を分析することができる。好ましくは、当該パネルは、ビールの風味、とりわけ、アルデヒド、紙様の味、古めかしい味、エステル類、高級アルコール類、脂肪酸類、及び、硫黄成分に特化して試験及び表現する訓練を受けている。

30

【0228】

一般的に、食味検査パネルは、3~30名の範囲、例えば、5~15名の範囲、好ましくは、8~12名の範囲の人員で構成される。この食味検査パネルは、紙質臭、酸化臭、熟成臭、及び、パンのような異臭、ならびに、エステル類、高級アルコール類、硫黄成分といった風味などの存在、そして、ビールのコクなどの様々な風味を評価することができる。

【0229】

配列表

40

【表 A - 1】

配列番号 1	ハイブリッド酵母 1 由来の固有の対立遺伝子によってコードされた短い IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 2	ハイブリッド酵母 4 由来の短い IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 3	ハイブリッド酵母 4 由来の短い IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 4	ハイブリッド酵母 7 由来の短い IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 5	ハイブリッド酵母 7 由来の短い IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 6	ハイブリッド酵母 1 由来の S c 対立遺伝子によってコードされた DAL 5 アミノ酸配列	
配列番号 7	エール酵母 1 由来の S c 対立遺伝子によってコードされた PTR 2 のアミノ酸配列	10
配列番号 8	ラガー酵母 1 由来の S c 対立遺伝子によってコードされた PTR 2 のアミノ酸配列	
配列番号 9	ハイブリッド酵母 1 由来の非 S c 対立遺伝子によってコードされた PTR 2 のアミノ酸配列	
配列番号 10	ハイブリッド酵母 1 由来の S c 対立遺伝子によってコードされた UBR 1 の部分アミノ酸配列	
配列番号 11	ハイブリッド酵母 1 由来の非 S c 対立遺伝子によってコードされた UBR 1 のアミノ酸配列	
配列番号 12	ハイブリッド酵母 1 由来の短い S c 対立遺伝子によってコードされた IMA 1 p のアミノ酸配列	20
配列番号 13	ハイブリッド酵母 1 由来の短い S c 対立遺伝子によってコードされた IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 14	ハイブリッド酵母 1 由来の長い S c 対立遺伝子によってコードされた IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 15	ハイブリッド酵母 1 由来の長い S c 対立遺伝子によってコードされた IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 16	非 S c IMA 5 様によってコードされたハイブリッド酵母 1 由来の IMA 5 p のアミノ酸配列	
配列番号 17	S c IMA 5 様によってコードされたハイブリッド酵母 1 由来の IMA 5 p のアミノ酸配列	
配列番号 18	非 S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 1 由来の AGT 1 のアミノ酸配列	30
配列番号 19	S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 1 由来の AGT 1 のアミノ酸配列	
配列番号 20	S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 1 由来の AGT 1 のアミノ酸配列	
配列番号 21	長い IMA 1 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 4 由来の IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 22	長い IMA 1 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 4 由来の IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 23	長い IMA 1 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 7 由来の IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 24	長い IMA 1 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 7 由来の IMA 1 p のアミノ酸配列	40
配列番号 25	長い IMA 1 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 7 由来の IMA 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 26	S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 4 由来の	

【表 A - 2】

	一端が欠失されている A G T 1 のアミノ酸配列	
配列番号 2 7	非 S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 4 由来の A G T 1 のアミノ酸配列	
配列番号 2 8	非 S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 4 由来の A G T 1 のアミノ酸配列	
配列番号 2 9	S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 7 由来の一端が欠失されている A G T 1 のアミノ酸配列	
配列番号 3 0	S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 7 由来の A G T 1 のアミノ酸配列	
配列番号 3 1	非 S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 7 由来の A G T 1 のアミノ酸配列	10
配列番号 3 2	非 S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 7 由来の A G T 1 のアミノ酸配列	
配列番号 3 3	ハイブリッド酵母 7 由来の短い I M A 1 p のアミノ酸配列	
配列番号 3 4	ハイブリッド酵母 1 由来の I M A 5 のアミノ酸配列	
配列番号 3 5	ハイブリッド酵母 7 由来の I M A 5 のアミノ酸配列	
配列番号 3 6	ハイブリッド酵母 7 由来の I M A 5 のアミノ酸配列	
配列番号 3 7	ハイブリッド酵母 7 由来の P T R 2 の部分アミノ酸配列	
配列番号 3 8	ハイブリッド酵母 7 の P T R 2 のアミノ酸配列	
配列番号 3 9	ハイブリッド酵母 7 の D A L 5 のアミノ酸配列	20
配列番号 4 0	ハイブリッド酵母 7 の D A L 5 のアミノ酸配列	
配列番号 4 1	ハイブリッド酵母 7 の U B R 1 の部分アミノ酸配列	
配列番号 4 2	ハイブリッド酵母 7 の U B R 1 のアミノ酸配列	
配列番号 4 3	ハイブリッド酵母 1 の P T R 2 のアミノ酸配列	
配列番号 4 4	ハイブリッド酵母 1 の P T R 2 のアミノ酸配列	
配列番号 4 5	ハイブリッド酵母 1 の U B R 1 の部分アミノ酸配列	

## 【 0 2 3 0 】

## 配列番号 1

ハイブリッド酵母 1 由来の短い I M A 1 のアミノ酸配列

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGMKFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPKRD  
 WFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLR LFCSTQPD LN WENEDCRKAIY  
 ESAVGYWLDHGVDGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFHQEMNQF  
 IRNRVKDGREIMTVGEMQHASEDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYNLVPFELKD  
 WKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLLSALTGTLYVY  
 QGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEGIALVSRDHARTPMPWTP NEPNAGFSGPNTKP  
 WFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRKNHKDIAVYGFDFKF  
 IDLDNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDGSSFKLEFGNYPKNEVDASSRTLKPW  
 EGRIHINE.

## 【 0 2 3 1 】

## 配列番号 2

ハイブリッド酵母 4 由来の短い I M A 1 のアミノ酸配列

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGMKFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPKRD  
 WFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLR LFCSTQPD LN WENEDCRKAIY  
 ESAVGYWLDHGVDGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFHQEMNQF  
 IRNRVKDGREIMTVGEMQHASEDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYNLVPFELKD  
 WKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLLSALTGTLYVY  
 QGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEGIALVSRDHARTPMPWTP  
 NEPNAGFSGPNTKPFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRKNHKDIAVYGFDFKF  
 IDLDNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDGSSFKLEFGNYPKNEVDASSRTLKPW  
 EGRIIYINE

10

20

30

40

50

## 【 0 2 3 2 】

## 配列番号 3

ハイブリッド酵母 4 由来の短い I M A 1 のアミノ酸配列

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGMKFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPKRD  
 WFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKSYPFGGSAWTFDEKTQEFYLRFCSTQPDLNWENEDCRKAIY  
 ESAVGYWLDHGVGDGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFHQEMNQF  
 IRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYNLVPFELKD  
 WKIALAELFRFINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVI SGKLLSVLLSALTGTLYVY  
 QGQELGQINFKNWSVEKYEDVEIRNNYRLIKEECGENSEEMKKFLEGIALVSRDHARTPMPWTP  
 NEPNAGFSGPNTKPFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFFWKKALEFRKNHKDIAVYGFDFKF  
 IDLDNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDGSSFKLEFGNYPKNEVDASSRTLKPW  
 EGRIHINE.

10

## 【 0 2 3 3 】

## 配列番号 4

ハイブリッド酵母 7 由来の短い I M A 1 のアミノ酸配列

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGMKFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPKRD  
 WFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKSYPFGGSAWTFDEKTQEFYLRFCSTQPDLNWENEDCRKAIY  
 ESAVGYWLDHGVGDGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFHQEMNQF  
 IRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYNLVPFELKD  
 WKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVI SGKLLSVLLSALTGTLYVY  
 QGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEGIALVSRDHARTPMPWTP  
 NEPNAGFSGPNTKPFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFFWKKALEFRKNHKDIAVYGFDFKF  
 IDLDNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDGSSFKLEFGNYPKNEVDVSSRTLKPW  
 EGRITYINE.

20

## 【 0 2 3 4 】

## 配列番号 5

ハイブリッド酵母 7 由来の短い I M A 1 のアミノ酸配列

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGMKFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPKRD  
 WFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKSYPFGGSAWTFDEKTQEFYLRFCSTQPDLNWENEDCRKAIY  
 ESAVGYWLDHGVGDGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFHQEMNQF  
 IRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYNLVPFELKD  
 WKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVI SGKLLSVLLSALTGTLYVY  
 QGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEGIALVSRDHARTPMPWTP  
 NEPNAGFSGPNTKPFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFFWKKALEFRKNHKDIAVYGFDFKF  
 IDLDNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDGSSFKLEFGNYPKNEVDASSRTLKPW  
 EGRITYINE.

30

## 【 0 2 3 5 】

## 配列番号 6

ハイブリッド酵母 1 由来の S c 対立遺伝子によってコードされた D A L 5 のアミノ酸配列

MSADASTNSNASLDEKNLNI TSEAEIKNEDVTAEPVLSTVLSPNGKIVYISDKVDEAMKLAEEA  
 KEIEVTPEEDRKLRLWKIDYCMFPLMCLYAVQFMDKISTSSAAVMGLRTDLKMHGDQYSWVTS  
 FYFGYLFMNLGPVQFIFQRTSHMSKMLAVFIVIWGMLLALHAAPTVMKYPSEIVLRVLLGCAESV  
 VTPCFTIITAQYWKTEEQFTRVSIWFGMNLGSLILINAIAYGVYIHQDSYAIKGWRTLFIITGV  
 ITIFIGILIFLWIPDDPSKARFLSKREKLMVVQRIRSNQQGFGNHEIKKYQIEALKDVRTWLY  
 FLFTVSSNIPNGGISSEFMSILLNSDFGYSSKETLLMGLPTGAVELVGCPLFGILAVYAANKKIP  
 FWKYKLSWAFAAVLALIASCMLGFATNSKKARLAGAYLWYISPVSFICVLSNISANSSGYSKK  
 WTVSSINLVAYAAANLAGPQTFIAKQAPKYHGAKVAMVVCYAVMIVLLSILLIVNLRENKRRDK  
 IAAERGFPEETENLEFSDLTDFENPNFRYTL.

40

## 【 0 2 3 6 】

## 配列番号 7

50

エール酵母 1 由来の S c 対立遺伝子によってコードされた P T R 2 のアミノ酸配列

MLNHPSQGSDDAQDEKQGDFPVIEEEKTQAVMLKDSYVSDDVANSTERYNLSPSEDEDFEAPT  
 EEEMQTLRHVGGKIPMRCWLI A I VELSERSFYGLSAPFQNYMEYGPNDSPKGVLSLNSQGATG  
 LSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWKGKNTICCGTAIYIAGIFILFITSIPSVGNRDSAIGGFIA  
 A I I L I G I A T G M I K A N L S V L I A D Q L P K R K P S I K V L K S G E R V I V D S N I T L Q N V F M F F Y F M I N V G S L  
 S L M A T T E L E Y H K G F W A A Y L L P F C F F W I A V V T L I F G K K Q Y I Q R P I G D K V I A K S F K V C W I L T K N K F  
 D F N A A K P S V H P E K N Y P W N D K F V D E I K R A L A A C K V F I F Y P I Y W T Q Y G T M I S S F I T Q A S M M E L H G I  
 P N D F L Q A F D S I A L I I F I P I F E K F V Y P F I R R Y T P L K P I T K I F X G F M F G S F A M T W A A V L Q S F V Y K A  
 G P W Y N E P L G H N T P N H V H V C W Q I P A Y V L I S F S E I F A S I T G L E Y A Y S K A P A S M K S F I M S I F L L T N A  
 F G S A I G C A L S P V T V D P K F T W L F T G L A V A C F I S G C L F W L C F R K Y N D T E E E M N A M D Y E E E N E F D L N  
 P I S A P K A N D I E I L E P M D S L R S T A K Y .

10

【 0 2 3 7 】

配列番号 8

ラガー酵母 1 由来の S c 対立遺伝子によってコードされた P T R 2 のアミノ酸配列

MLNHPSQGSDDAQDEKQGDFPVIEEEKTQAVTLKDSYVSDDVANSTERYNLSPSEDEDFEAPT  
 EEEMQTLRHVGGKIPMRCWLI A I VELSERSFYGLSAPFQNYMEYGPNDSPKGVLSLNSQGATG  
 LSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWKGKNTICCGTAIYIAGIFILFITSIPSVGNRDSAIGGFIA  
 A I I L I G I A T G M I K A N L S V L I A D Q L P K R K P S I K V L K S G E R V I V D S N I T L Q N V F M F F Y F M I N V G S L  
 S L M A T T E L E Y H K G F W A A Y L L P F C F F W I A V V T L I F G K K Q Y I Q R P V G D K V I A K S F K V C W I L T K N K F  
 D F N A A K P S V H P E K N Y P W N D K F V D E I K R A L A A C K V F I F Y P I Y W T Q Y G T M I S S F I T Q A S M M E L H G I  
 P N D F L Q A F D S I A L I I F I P I F E K F V Y P F I R R Y T P L K P I T K I F F G F M F G S F A M T W A A V L Q S F V Y K A  
 G P W Y N E P L G H N T P N H V H V C W Q I P A Y V L I S F S E I F A S I T G L E Y A Y S K A P A S M K S F I M S I F L L T N A  
 F G S A I G C A L S P V T V D P K F T W L F T G L A V A C F I S G C L F W L C F R K Y N D T E E E M N A M D Y E E E D E F D L N  
 P I S A P K A N D I E I L E P M E S L R S T T K Y

20

【 0 2 3 8 】

配列番号 9

ハイブリッド酵母 1 由来の非 S c 対立遺伝子によってコードされた P T R 2 のアミノ酸配列

MLNHL SQGSDDIQDEKQGDFPVIEEKNQTVTLKDSYVSDDAANSTEHYNLSPSLEEDEFEAPT  
 DEELRSLRHVGGKIPMRCWLI A I VELSERSFYGLSAPFQNYMEYGPKDTPKGVLNSLNSQGATG  
 LSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWKGKNTICCGTAIYIAGIFILLITSIPSVGNRDSALGGFIA  
 S I I L I G I A T G M I K A N L S V L I A D Q L P K R K P S I K V L K S G E R V I V D S N I T L Q N V F M F F Y F M I N V G S L  
 S L M A T T E L E Y H K G F W A A Y L L P F C F F W A V V T L V F G K K Q Y I Q R P I G D K V I A K S F R V C W I L T K N K F  
 D F N A A K P S V H P E K E Y P W N D K F V D E I K R A L A A C K V F V F Y P I Y W T Q Y G T M I S S F I T Q A G M M E L H G I  
 P N D F L Q A F D S I A L I I F I P I F E K F I Y P F I R R Y T P F K P I T K I F F G F M F G S L A M T W A A V L Q S F V Y K A  
 G P W Y S A P L G H N T P N H V H V C W Q I P A Y V L I S F S E I F A S I T G L E Y A Y S K A P A S M K S F I M S I F L L T N A  
 F G S A I G C A L S P V T V D P K F T W L F T G L A V A C F I S G C L F W F C F R K Y N D T E E E M N A M D Y E E E D E F D L N  
 P I S Q P K G N D I E I L E P M G S L K S T T K Y

30

【 0 2 3 9 】

配列番号 10

ハイブリッド酵母 1 の S c 対立遺伝子によってコードされた U B R 1 の不完全アミノ酸配列

FKEFCKVEGGVL IQRVQKSNLTKSYSI SFKQGLYTVETLLSKVHDPN I PLRPKE I I SLLTLCK  
 LFNGAWK I KRKEGEHVLHEDQNF I SYLEYTTS I YS I IQTAEKVSEKSKDS I DSKLFLNA I R I I S  
 SFLGNRSLTYKL I YDSHEV I KFSVSHERVA FMNPLQ TMLSFL I EKVSLKDAYEALED CSDFLK I  
 SDFSLRSVVLCSQ I DVGFWVRNGMSVLHQASYYKNNPELGSYSRD I HLNQLA I LWERDD I PR I I  
 YN I LDRWELLDWFTGEVDYQHTVYEDK I SF I IQQF I AF I YQ I LTERQYFKTFSSLKDRRMDQ I K  
 NS I IYNLYMKPLSYSKLLRSVPDYL TEDTTEFDEALEEVSFVFEKGLADNGVFKLKASLYAKV  
 DPLKLLNLENEFESS

40

【 0 2 4 0 】

50

## 配列番号 1 1

ハイブリッド酵母 1 の非 S c 対立遺伝子によってコードされた U B R 1 のアミノ酸配列

MSFTDNLGSLKAH I RRTLRS I HNLPYFRFTRGPTERADMSRALKEF I YRYLYF I I SNDGENLS  
 TLFTAHPKQKSSNQELAVFPESLEDALDVK I TSQGTFFPYK I DESK I GDVHKHTGRNCGRKFK  
 I GEPLYRCHCEGCDTDCVLC I HCFNPKDHNHVVCTD I CSEFTSG I CDCGDEEAWNSSLHCKAE  
 EQGNDTSEDPSNFDSTKQKDVWNDPEC I ALVELVLSEVFDYF I DVFNQNI EPLPT I QKD I T I KL  
 REMTQQGKMYERAQFLNDLKYENDYMFDTGTTTAKTSPNSPEASPSLAK I DPENYTV I I YNDEY  
 HNYSQATTALRQGVDPNVH I DLLTSR I DGEGRAMLKCSQDLSSVLGGFFAVQTNGLSATLTSWS  
 EYLHQEACKY I I LW I THCLN I PNPSFQ I TFRNMMGKSLCSEYLNATESRDMTPVVEKYFSTKFD  
 KDDPYRY I DLSVLAEGNQ I PLGHHKVLPESSHSLSTL I NDVENLTSKEYSNTRLQH I LYFDNR  
 YWKRLRKD I QNV I I PTLASSTLYK I FCGQVVE I FNH I TRSVAYMDREPQLTA I RECVVQLFTC  
 PTNTRN I FENQSFLD I LWS I I D I FKEFCKVEAGVL I WQRVQKSNLTKSYSLSFKQGLYTVETLL  
 SKVNDPN I T I RPKV F I SLLTLGKLFNGAWK I KRKEGEHVLHEDQNF I SYLEYTTS I YS I I QTAE  
 KVLEKSHDSLNLVNA I R I VSSFLGNRSPTYKL I YDSHE I I KFSVSHERVAFMNP I QTMLSF  
 L I EKVSLKDAYESENCPDFLK I ADFSLRSVVLCSQ I DVGFWVRNGMSVLHQASYKNNPELGS  
 YSRD I HLNQLA I I WERDDLPRV I YN I LDRWELLDWFMGEAEYQHTVYEDK I SFM I QQF I AF I YQ  
 I LTERQYFKTFSLRRRMDM I KNS I MYNLYMKPLSYSKLLKSVDPYLTDDTTEFDEALEEVS  
 FVEPKGLADNGVFKLKAALYAK I DPLKLLNLENEFESSAT I I KTHLAKNKDEVSKVVL I PQVST  
 KLLDKGAMNLGEFTRNTVFAKV I YKLLQVCLDMEDSTFLNELLHLVHG I FKDEL I NGKDS I PE  
 AYLAKP I CNLLLS I ANAKSD I FSES I VRKADYLLEKM I MKKPDE I FESL I ASFGNQY I DNYKDK  
 KLSQGVNLQETEKERKRMAKHHQARLLAKFNQKSKFMKEHESEFDEQDNDVMDGEKVYESE  
 DFTCALCQDSSSTDFV I PAYHDHTP I FRPGN I FNPREFMAKWDGFYNDKQAY I DDEVLESL  
 KENGRTRSRKVFVSCNHH I HHNCFKRYVQKRFSSNAF I CPLCQTFSNCTLP I CPTSRANTGLS  
 LDMFLKSELSLD I LSRLFKPFTEDNYRT I NS I FSLMVSQCQGFVKVVRKHVNFTHKDVSLVLSV  
 HWANT I SMLEVASRLEKPHN I SFFRSREKQYKTLKN I L I C I MLFTFV I GKPSMEFEPYPVESD I  
 I CNQNQLFQY I VRKSLFSPASLRET I TEALTVFCKQFLDDFVQGLSDAEQVDKLYTEAKKLDV  
 YNVDES I L I TLMS I TVVKTEGLESR I YDLAYTSLKSLPT I RRCLVMVKVHELKDKSENET  
 MV I DGFVDEEELEFEGLPGFVDKALKL I TDKESFVDLFTKQA I VPSHPYLER I PYEYCG I VKL  
 I DLSKFLNTYVTSKE I KLREERSQHMKNADNRLDFK I CLTCGVKVLHRADRHEMTKHLNKNCF  
 KSGFAFLMNSSEVCLHLTQPPSN I FVSAPYLNSHGEVGRNAMRRGDLTTLNLKRYEHLNRLW I  
 NNE I PGY I SRVMGDEFVRT I LSNGLFLAFNREPRRRVPPTDEDEDMEEGEEGFTEENDMD  
 VDEETGQAANLFGVGAEG I GDGGVRNFFQFFENFRNTLQPQGNDEEDAPQNPPP I LQFLGPQFD  
 GAT I I RNTNQRNLDEDDSENDDSDERE I W

【 0 2 4 1 】

## 配列番号 1 2

ハイブリッド酵母 1 由来の短い S c 対立遺伝子によってコードされた I M A 1 p のアミノ酸配列

MGYD I ANYEKVWPTYGTNEDCFAL I EKTHKLGMKF I TDLV I NHCSSHEWFKESRSSKTNPKRD  
 WFFWRPPKGYDAEGKP I PPNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLRFCSTQPDNLWENEDCRKA I Y  
 ESAVGYWLDHGVDFR I DVGSLYSKVVLGPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPR I HEFHQEMNQF  
 I RNRVKDGRE I MTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSEFNFSHTDVGTSPLFRYNLVPFELKD  
 WK I ALAELFRF I NGTDCWST I YLENHDQPRS I TRFGDDSPKNRV I SGKLLSVLLSALTGTLYVY  
 QGQELGQ I NFKNWSVEKYEDVE I RNNYRL I KEECGENSEEMKKFLEG I ALVSRDHARTPMPWTP  
 NEPNAGFSGPNTKPWFYLNESFRQG I NVEEQKNSDSVLAFWKKALEFRKNHKD I AVYGFDFKF  
 I DLNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFK I PNDGSSFKLEFGNYPKNEVDASSRTLKPW  
 EGR I H I NE

【 0 2 4 2 】

## 配列番号 1 3

ハイブリッド酵母 1 由来の短い S c 対立遺伝子によってコードされた I M A 1 p のアミノ酸配列

10

20

30

40

50

MGYD I ANYEKVWPTYGTNEDCFAL I EKTHKLGMKF I TDLV I NHCSSHEHEWFKESRSSKTNPKRD  
 WFFWRPPKGYDAEGKP I PPNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLRLFCSTQPDNLWENEDCRKA I Y  
 ESAVGYWLDHGVDGFR I DVGSLYSKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPR I HEFHQEMNQF  
 I RNRVKGGRE I MTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYNLVPFELKD  
 WK I ALAELFRF I NGTDCWST I YLENHDQPRS I TRFGDDSPKNRV I SGKLLSVLLSALTGTLYVY  
 QGQELGQ I NFKNWSVEKYEDVE I RNNYRL I KEECGENSEEMKKFLEG I ALVSRDHARTPMPWTP  
 NEPNAGFSGPNTKPFYLNESFRQG I NVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRKNHKD I AVYGFDFKF  
 I DLDNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFK I PNDGSSFKLEFGNYPKNEVDASSRTLKPW  
 EGR I H I N E

【 0 2 4 3 】

10

配列番号 1 4

ハイブリッド酵母 1 由来の長い S c 対立遺伝子によってコードされた I M A 1 p のアミノ酸配列

MT I SSAHPETEPKWWKEATFYQ I YPASFKDSNDDGWGDMKG I SSKLEY I KELGVDA I W I SPLYD  
 SPQDDMGYD I ANYEKVWPTYGTNEDCFAL I EKTHKLGMKF I TDLV I NHCSSHEHEWFKESRSSKT  
 NPKRDWSFWRPPKGYDAEGKP I PPNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLRLFCSTQPDNLWENEDC  
 RKA I YESAVGYWLDHGVDGFR I DVGSLYSKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPR I HEFHQ  
 EMNQF I RNRVKDGRE I MTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYNLVP  
 FELKDWK I ALAELFRY I NGTDCWST I YLENHDQPRS I TRFGDDSPKNRV I SGKLLSVLLSALTG  
 TLYVYQGQELGQ I NFKNWPVEKYEDVE I RNNYNA I KEEHGENSEEMKKFLEG I ALVSRDHARTP  
 MPWTPNEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREG I NVEDE I KDPNSVLNFWKEALKFRKAHKD I TVYG  
 YDFEF I DLDNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFK I PNDDSSFKLEFGNYPKKEVDASSR  
 TLKPWEGR I Y I S E

20

【 0 2 4 4 】

配列番号 1 5

ハイブリッド酵母 1 由来の長い S c 対立遺伝子によってコードされた I M A 1 p のアミノ酸配列

MT I SSAHPEAEPKWWKEATFYQ I YPASFKDSNDDGWGDMKG I SSKLEY I KELGADA I W I SPFYD  
 SPQDDMGYD I ANYEKVWPTYGTNEDCFAL I EKTHKLGMKF I TDLV I NHCSSHEHEWLFKESRSSKT  
 NPKRDWFFWRPPKGYDAEGKP I PPNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLRLFCSTQPDNLWENEDC  
 RKA I YESAVGYWLDHGVDGFR I DVGSLYSKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPR I HEFHQ  
 EMNQF I RNRVKDGRE I MTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYNLVP  
 FELKDWK I ALAELFRF I NGTDCWST I YLENHDQPRS I TRFGDDSPKNRV I SGKLLSVLLSALTG  
 TLYVYQGQELGQ I NFKNWPVEKYEDVE I RNNYNA I KEEHGENSEEMKKFLEA I AL I SRDHARTP  
 MQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREG I NVEDE I KDPNSVLNFWKEALKFRKAHKD I TVYG  
 YDFEF I DLDNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFK I PNDDSSFKLEFGNYPKKEVDASSR  
 TLKPWEGR I Y I S E

30

【 0 2 4 5 】

配列番号 1 6

非 S c I M A 5 様対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 1 由来の I M A 5 p のアミノ酸配列

MT I IHNPKWWEKAT I YQ I YPASFKDSNDDGWGDLG I TSKLDY I KELGVDA I WVCPFYDSPQED  
 MGYD I ANYEKVWPRYGTSEDCFQM I EESHKRG I KV I VDLV I NHCSEEHEHEWFKESRSSKTNPKRD  
 WFFWKPPKGYE I DGTP I PPNWRSFFGGSAWKYDENTEEFFLHVFPAGQPDPFNWENKECRQA I Y  
 DSSVGFWLRHNVVDGFR I DVGSMYSKVEGLPDAS I TDPTVPYQDGTDFVNGPR I HEYHKEMRQY  
 MYTQ I PEGKE I MTVGVEVG I GNEKDFDYTSSKEEEFNMMFNKHTSVGESPEFKYEL I PFTLKD  
 FKLALAESFLF I EGTDCWST I YLENHDQPRSVSRFGSDSPEWRE I SSKMLATL I I SLTGTVF I Y  
 QGQELGMPNFKNRK I EQ I KCVEGTGTGAI I KRDYGEDSEKMKKFYEALAL I SRDHGRTPFPWSG  
 EKPYAGFSKNAKPW I D I NESFVEG I NAEALNDENS VFFFWKRALQVRKEHKHMLVYGDNFQFY  
 DLNNEKLFMFTKDSGDKMFAVFNFCSDSTEFVDPDNKASYDMFFGNANSYGKSYTLKPWEGR

50

LYYSN

【 0 2 4 6 】

配列番号 1 7

S c - I M A 5 様によってコードされたハイブリッド酵母 1 由来の I M A 5 p のアミノ酸配列

MT I I H N P K W W K E A T V Y Q I Y P A S N K D S N N D G W G D L A G I T S K L D Y V K E L G V D A I W V C L F Y D S P Q E D  
M G Y D I A N Y E K V W P R Y G T N E D C F Q M I E E A H K R G I K V I V D L V I N H C S E E H E W F K E S K S S K T N P K R D  
W F F W R P P K G F D E K G N P I P P N N W R S F F G G S A W R Y D E K T G E F F L H V F A P G Q P D F N W E N E E C R K A I Y  
D S S V G Y W L R H N V D G F R I D V G S M Y S K V E G L P D A P I T D P T V P Y Q K G T E F F I N G S R I H E Y H K E M R K Y  
M L S Q I P E G K E I M T V G E V G V G N E E D F R D Y T S A K E G E L N M M F N F K H T S V G E S P E C K Y E L I P F T L K D  
F K L A L A E S F L F I E N T D C W S T I Y L E N H D Q P R S V S R F G S D S P K W R A I S S K M L A T L I I S L T G T V F I Y  
Q G Q E L G M S N F K N R R I E Q I K C V E G T G T Y A A I K R D Y G E D S E K M K K F F E A L A L I S R D H G R T P F P W S A  
D E P S A G F S K D A K P R I D M N E S F R D G I N A E A E L K D K N S V F F F W K K A L Q V R K E H K D I L V Y G H N F Q F I  
D L D N D K L F M F T K D T D N K M F A V F N F S S D D T D F S V P D N E A S Y T M F F G N Y A N S N G D S R T L Q P W E G R  
L Y L L K

10

【 0 2 4 7 】

配列番号 1 8

非 S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 1 由来の A G T 1 のアミノ酸配列

M K N I L S L V G R K E N T P E D V T A N L A D T S S T T V M Q A K D L V I E D F E E R K K N D A F E L N H L E L T T N A T Q L  
S D S D E D K E N V I R V A E A T D D A N E A N N E E K S M T L R Q A L R K Y P K A A L W S I L V S T T L V M E G Y D T A L L S  
A L Y A L P V F Q R K F G T M N A E G S Y E I T S Q W Q I G L N M C V L C G E M I G L Q I T T Y M V E F M G N R Y T M I T A L S  
L L T A Y I F I L Y Y C K S L A M I A V G Q I L S A M P W G C F Q S L A V T Y A S E V C P L A L R Y Y M T S Y S N I C W L F G Q  
I F A S G I M K N S Q E N L G N S D L G Y K L P F A L Q W I W P A P L I G I F F A P E S P W W L V R K N K I V E A K K S L N R  
I L S G T V T E K E I Q V D I T L K Q I E M T I E K E R L R A S K S G S F F S C F K G V D G R R R L A C L T W V A Q N S S G A  
V L L G Y S T Y F F E R A G M A T D K A F T F S L I Q Y C L G L A G T L G S W V I S G R V G R W T I L T Y G L S F Q M V C L F I  
I G G M G F A S G S S A S N A A G L L L A L S F F Y N A G I G A V V Y C I V A E I P S A E L R T K T I V L A R I C Y N L M A V  
F N A I L T P Y M L N V S D W N W G A K T G L Y W G G F T A L T L A W V I I D L P E T T G R T F S E I N E L F S Q G V P A R K F  
A S T V V D P F G K R G L Q N R P Q V D N I I D R F S S A S Q Q A L

20

【 0 2 4 8 】

配列番号 1 9

S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 1 由来の A G T 1 のアミノ酸配列

M K N I I S L V S K K A A S K N E D K N I S E S S R D I V N Q Q E V F N T E N F E E G R K D S A F E L D H L E F T I N S A Q L  
G D S D E D N E N V I N E T N T T D D A N E A N S E E K S M T L K Q A L L I Y P K A A L W S I L V S T T L V M E G Y D T A L L N  
A L Y A L P V F Q R K F G T L N G E G S Y E I T S Q W Q I G L N M C V Q C G E I I G L Q I T P Y M V E F M G N R Y T M I T A L G  
L L T A Y V F I L Y Y C K S L A M I A V G Q V L S A M P W G C F Q G L T V T Y A S E V C P L A L R Y Y M T S Y S N I C W L F G Q  
I F A S G I M K N S Q E N L G N S D L G Y K L P F A L Q W I W P A P L M I G I F F A P E S P W W L V R K D R V A E A R K S L S R  
I L S G K G A E K D I Q I D L T L K Q I E L T I E K E R L L A S K S G S F L D C F K G V N G R R R L A C L T W V A Q N T S G A  
C L L G Y S T Y F F E R A G M A T D K A F T F S V I Q Y C L G L A G T L C S W V I S G R V G R W T I L T Y G L A F Q M V C L F I  
I G G M G F G S G S G A S N G A G L L L A L S F F Y N A G I G A V V Y C I V T E I P S A E L R T K T I V L A R I C Y N I M A V  
I N A I L T P Y M L N V S D W N W G A K T G L Y W G G F T A V T L A W V I I D L P E T S G R T F S E I N E L F N Q G V P A R K F  
A S T V V D P F G K G K T Q H D S L D D E S I S Q S S I K Q R E L N A A D K C

30

40

【 0 2 4 9 】

配列番号 2 0

S c 対立遺伝子によってコードされたハイブリッド酵母 1 由来の A G T 1 のアミノ酸配列

M K N I I S L V S K K A A S K N E D K N I S E S S R D I V N Q Q E V F N T E N F E E G R K D S A F E L D H L E F T I N S A Q L  
G D S D E D N E N V I N E T N T T D D A N E A N S E E K S M T L K Q A L L I Y P K A A L W S I L V S T T L V M E G Y D T A L L N  
A L Y A L P V F Q R K F G T L N G E G S Y E I T S Q W Q I G L N M C V Q C G E I I G L Q I T P Y M V E F M G N R Y T M I T A L G  
L L T A Y V F I L Y Y C K S L A M I A V G Q V L S A M P W G C F Q G L T V T Y A S E V C P L A L R Y Y M T S Y S N I C W L F G Q  
I F A S G I M K N S Q E N L G N S D L G Y K L P F A L Q W I W P A P L M I G I F F A P E S P W W L V R K D R V A E A R K S L S R

50

ILSGKGAEKDIQIDLTLKQIELTIEKERLLASKSGSFFDCFKGVNGRRTRLACLWVAQNTSGA  
 CLLGYSAYFFERAGMATDKAFTFSVIQYCLGLAGTLCSSWVISGRVGRWTILTYGLAFQMVCLFI  
 IGGMGFGSGSGASNGAGLLALSFFYNAGIGAVVYCVTEIPSAELRKTIVLARICYNIMAV  
 INAILTPLYMLNVSDWNWGAKTGLYWGGFTAVTLAWVIIDLPEPSTGRTFSEINELFNQGVPAKRF  
 ASTVVDPPFGKGTQHDSLDDDESISQSSSIKQRELNAADKC

【 0 2 5 0 】

配列番号 2 1

ハイブリッド酵母 4 由来の長い I M A 1 対立遺伝子によってコードされた I M A 1 p のアミノ酸配列

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDMKGISSEKLEYIKELGVDAIWI SPFYD  
 SPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGGMKFI TDLVINHCSSHEWFKESRSSKT  
 NPKRDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKSYPFGGSAWIFDEKTQEFYLRFCSTQPDNLWENEDC  
 RKAIESAVGYWLDHGVVDGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFHQ  
 EMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFHSHTDVGTSPLFRYNLVP  
 FELKDWKIALAELFRFINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLLSALTG  
 TLYVYQQQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEAIALISRDHARTP  
 MQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLNFWKEALKFRKAHKDITVYGYDFEFIDLDNKKLFSFTKKNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSSFKLEFGNYPKKEVDASSR  
 TLKPWEGRYISE.

10

【 0 2 5 1 】

20

配列番号 2 2

ハイブリッド酵母 4 由来の長い I M A 1 対立遺伝子によってコードされた I M A 1 p のアミノ酸配列

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDMKGISSEKLEYIKELGVDAIWI SPFYD  
 SPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGGMKFI TDLVINHCSSHEWFKESRSSKT  
 NPKRDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKSYPFGGSAWIFDEKTQEFYLRFCSTQPDNLWENEDC  
 RKAIESAVGYWLDHGVVDGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFHQ  
 EMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFHSHTDVGTSPLFRYNLVP  
 FELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLLSALTG  
 TLYVYQQQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEAIALISRDHARTP  
 MQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLNFWKEALKFRKAHKDITVYGYDFEFIDLDNKKLFSFTKKNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSSFKLEFGNYPKKEVDASSR  
 TLKPWEGRYISE.

30

【 0 2 5 2 】

配列番号 2 3

ハイブリッド酵母 7 由来の長い I M A 1 対立遺伝子によってコードされた I M A 1 p のアミノ酸配列

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDMKGISSEKLEYIKELGVDAIWI SPFYD  
 SPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGGMKFI TDLVINHCSSHEWFKESRSSKT  
 NPKRDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKSYPFGGSAWIFDEKTQEFYLRFCSTQPDNLWENEDC  
 RKAIESAVGYWLDHGVVDGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFHQ  
 EMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKKLYTSASRHELSELFNFHSHTDVGTSPLFRYNLVP  
 FELKDWKIALAELFRFINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLLSALTG  
 TLYVYQQQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEAIALISRDHARTP  
 MQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLNFWKEALKFRKAHKDITVYGYDFEFIDLDNKKLFSFTKKNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSSFKLEFGNYPKKEVDASSR  
 TLKPWEGRYISE.

40

【 0 2 5 3 】

配列番号 2 4

ハイブリッド酵母 7 由来の長い I M A 1 対立遺伝子によってコードされた I M A 1 p のア

50

## ミノ酸配列

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDMKGISSEKLEYIKELGVDAIWI SPFYD  
 SPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGGMKFI TDLVINHCSSEHEWFKESRSSKT  
 NPKRDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLR LFCSTQPD LNWENEDC  
 RKA IYESAVGYWLDHGVDGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRI HEFHQ  
 EMNQFI RNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYNLVP  
 FELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLLSALTG  
 TLYVYQQQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEAIALISRDHARTP  
 MQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLNFWKEALKFRKAHKDITVYG  
 YDFEFDLDNKKLFSFTKKYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSSFKLEFGNYPKKEVDASSR  
 TLKPWEGR IYISE.

10

【 0 2 5 4 】

配列番号 2 5

ハイブリッド酵母 7 由来の長い I M A 1 対立遺伝子によってコードされた I M A 1 p のア  
 ミノ酸配列

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDMKGISSEKLEYIKELGVDAIWI SPFYD  
 SPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGGMKFI TDLVINHCSSEHEWFKESRSSKT  
 NPKRDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLR LFCSTQPD LNWENEDC  
 RKA IYESAVGYWLDHGVDGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRI HEFHQ  
 EMNQFI RNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYNLVP  
 FELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLLSALTG  
 TLYVYQQQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEAIALISRDHARTP  
 MQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLNFWKEALKFRKAHKDITVYG  
 YDFEFDLDNKKLFSFTKKYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSSFKLEFGNYPKKEVDASSR  
 TLKPWEGR IYISE.

20

【 0 2 5 5 】

配列番号 2 6

ハイブリッド酵母 4 由来の S c 対立遺伝子によってコードされた一端が欠失されている A  
 G T 1 のアミノ酸配列

MKNI I SLVSKKKAASKNEDKNI SESSRD I VNQQEVFN TENFEEGKKDSAFELDHLEFTTNSAQL  
 GDSDEDNENMI NEMNATDEANEANSEEKSM TLKQALLKYPKAALWS I LVSTTLVMEGYDTALLN  
 ALYALPVFQRKFGTLNGEGSYE I TSQWQ I GLNMCVQCGEM I GLQ I TTYMVFEFMGNRYTM I TALG  
 LLTAY I F I LYYCKSLAM I AVGQVLSAMPWGC FQGLTVTYASEVCP LALRYYMTSYSN I CWLFGQ  
 I FASG I MKNSQENLGNSDL DYKLPFALQW I WPAPL M I G I FFAPESPWWLVRKDRVAEARKSLSR  
 I LSGKGAEKD I QVDLTLKQ I ELT I EKERLLASKSGSFFDCFKGVNGRRRLACLAWVAQNTSGA  
 CLLGYSTYFF.

30

【 0 2 5 6 】

配列番号 2 7

ハイブリッド酵母 4 由来の非 S c 対立遺伝子によってコードされた A G T 1 のアミノ酸配  
 列

MKNI I LSLVGRKENTPEDVTANLADTSSSTTVMAKDLV I EDFEERKKND AFELNHLELTTNATQL  
 SDSDEDKENV I RVAEATDDANEANNEEKSM TLRQALRKYPKAALWS I LVSTTLVMEGYDTALLS  
 ALYALPVFQRKFGTMNAEGSYE I TSQWQ I GLNMCVLCGEM I GLQ I TTYMVFEFMGNRYTM I TALS  
 LLTAY I F I LYYCKSLAM I AVGQ I LSAMPWGC FQSLAVTYASEVCP LALRYYMTSYSN I CWLFGQ  
 I FASG I MKNSQENLGNSDLGYKLPFALQW I WPAPL I G I FFAPESPWWLVRKNK I VEAKKSLNR  
 I LSGTVTEKE I QVD I TLKQ I EMT I EKERLRASKSGSFFSCFKGVDRRRLACL TWVAQNSSGA  
 VLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSL I QYCLGLAGTLGSWV I SGRVGRWT I LTYGLSFQMVCLFI  
 I GGMGFASGSSASNAAGLLLALSFFYNAG I GAVVYCI VAE I PSAELRKT I VLAR I CYNLMAV  
 FNA I LTPYMLNVSDWNWGAKTGLYWGDFALT LAWVI I DLPETTGRTFSE I NELFSQGV PARKF  
 ASTVVDPFGRGLQNR PQVDNI I DRFSSASQQAL.

40

50

## 【 0 2 5 7 】

配列番号 2 8

ハイブリッド酵母 4 由来の非 S c 対立遺伝子によってコードされた A G T 1 のアミノ酸配列

MKN I LSLVGRKENTPEDVTANLADTSSTTVMQAKDLV I EDFEERKKNDAFELNHLELTTNATQL  
 SDSDEDKENV I RVAEATDDANEANNEEKSM TLRQALRKYPKAALWS I LVSTTLVMEGYDTALLS  
 ALYALPVFQRKFGTMNAEGSYE I TSQWQ I GLNMCVLCGEM I GLQ I TTYMVEFMGNRYTM I TALS  
 LLTAY I F I LYYCKSLAM I AVGQ I LSAMPWGC FQSLAVTYASEVCPLAL RYYMTSYSN I CWLFGQ  
 I FASG I MKNSQENLGNSDLGYKLPFALQW I WPAPL I G I FFAPESPWWLVRKNK I VEAKKSLNR  
 I LSGTVTEKE I QVD I TLKQ I EMT I EKERLRASKSGSFFSCFKGVDGRRTRLACL TWVAQNSSGA  
 VLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSL I QYCLGLAGTLGSWV I SGRVGRWT I LTYGLSFQMVCLF I  
 I GGMGFASGSSASNAAGLLLALSFFYNAG I GAVVYC I VAE I PSAELRKT I VLAR I CYNLMAV  
 FNA I LTPYMLNVSDWNWGAKTGLYWGFTALTLAWV I IDLPETTGRTFSE I NELFSQGV PARKF  
 ASTVVDPFQKRG LQNR PQVDN I I DRFSSASQQAL .

10

## 【 0 2 5 8 】

配列番号 2 9

ハイブリッド酵母 7 由来の S c 対立遺伝子によってコードされた一端が欠失されている A G T 1 のアミノ酸配列

MKN I I SLVSKKKAASKNEDKN I SESSRD I VNQQEVFN TENFEEGKKDSAFELDHLEFTTNSAQL  
 GDSDEDNENM I NEMNATDEANEANSEEKSM T LKQALLKYPKAALWS I LVSTTLVMEGYDTALLN  
 ALYALPVFQRKFGTLN GEGSYE I TSQWQ I GLNMCVQCGEM I GLQ I TTYMVEFMGNRYTM I TALG  
 LLTAY I F I LYYCKSLAM I AVGQVLSAMPWGC FQGLTVTYASEVCPLAL RYYMTSYSN I CWLFGQ  
 I FASG I MKNSQENLGNSDL DYKLPFALQW I WPAPLM I G I FFAPESPWWLVRKDRVAEARKSLSR  
 I LSGKGAEKD I QVDLTLKQ I ELT I EKERLLASKSGSFFDCFKGVNGRRTRLACLAWVAQNTSGA  
 CLLGYSTYFF .

20

## 【 0 2 5 9 】

配列番号 3 0

ハイブリッド酵母 7 由来の S c 対立遺伝子によってコードされた A G T 1 のアミノ酸配列

MKN I I SLVSKKKAASKNEDKN I SESSRD I VNQQEVFN TENFEEGRKDSAFELDHLEFT I NSAQL  
 GDSDEDNENV I NETNTTDDANEANSEEKSM T LKQALL I YPKAALWS I LVSTTLVMEGYDTALLN  
 ALYALPVFQRKFGTLN GEGSYE I TSQWQ I GLNMCVQCGE I I GLQ I TPYMVEFMGNRYTM I TALG  
 LLTAYV F I LYYCKSLAM I AVGQVLSAMPWGC FQGLTVTYASEVCPLAL RYYMTSYSN I CWLFGQ  
 I FASG I MKNSQENLGNSDLGYKLPFALQW I WPAPLM I G I FFAPESPWWLVRKDRVAEARKSLSR  
 I LSGKGAEKD I Q I DLTLKQ I ELT I EKERLLASKSGSFFDCFKGVNGRRTRLACL TWVAQNTSGA  
 CLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSV I QYCLGLAGTLC SWV I SGRVGRWT I LTYGLAFQMVCLF I  
 I GGMGFSGSGASNGAGLLLALSFFYNAG I GAVVYC I VTE I PSAELRKT I VLAR I CYN I MAV  
 INA I LTPYMLNVSDWNWGAKTGLYWGFTA VTLAWV I IDLPETSGRTFSE I NELFNQGV PARKF  
 ASTVVDPFQK GKTQHDSLDDES I SQSSS I KQRELNAADKC .

30

## 【 0 2 6 0 】

配列番号 3 1

ハイブリッド酵母 7 由来の非 S c 対立遺伝子によってコードされた A G T 1 のアミノ酸配列

MKN I LSLVGRKENTPEDVTANLADTSSTTVMQAKDLV I EDFEERKKNDAFELNHLELTTNATQL  
 SDSDEDKENV I RVAEATDDANEANNEEKSM TLRQALRKYPKAALWS I LVSTTLVMEGYDTALLS  
 ALYALPVFQRKFGTMNAEGSYE I TSQWQ I GLNMCVLCGEM I GLQ I TTYMVEFMGNRYTM I TALS  
 LLTAY I F I LYYCKSLAM I AVGQ I LSAMPWGC FQSLAVTYASEVCPLAL RYYMTSYSN I CWLFGQ  
 I FASG I MKNSQENLGNSDLGYKLPFALQW I WPAPL I G I FFAPESPWWLVRKNK I VEAKKSLNR  
 I LSGTVTEKE I QVD I TLKQ I EMT I EKERLRASKSGSFFSCFKGVDGRRTRLACL TWVAQNSSGA  
 VLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSL I QYCLGLAGTLGSWV I SGRVGRWT I LTYGLSFQMVCLF I  
 I GGMGFASGSSASNAAGLLLALSFFYNAG I GAVVYC I VAE I PSAELRKT I VLAR I CYNLMAV

50

FNA I LTPYMLNVSDWNWGAKTGLYWGGFTALTLAWV I IDLPETTGRTFSE I NELFSQGV PARKF  
ASTVVD PFGKRGLQNR PQVDN I DRFSSASQQAL .

【 0 2 6 1 】

配列番号 3 2

ハイブリッド酵母 7 由来の非 S c 対立遺伝子によってコードされた A G T 1 のアミノ酸配列

MKN I LSLVGRKENTPEDVTANLADTSSTTVMQAKDLV I EDFEERKKND AFELNHLELTTNATQL  
SDSDEDKENV I RVAEATDDANEANNEEKSM TLRQALRKYPKAALWS I LVSTTLVMEGYDTALLS  
ALYALPVFQRKFGTMNAEGSYE I TSQWQ I GLNMCVLCGEM I GLQ I TTYMVEFMGNRYTM I TALS  
LLTAY I F I LYYCKSLAM I AVGQ I LSAMPWGC FQSLAVTYASEV CPLALRYM TSYSN I CWLFGQ  
I FASG I MKNSQENL GNSDLGYKLPFALQW I WPAPL I I G I FFAPESPWWLVRKNK I VEA K KSLNR  
I LSGTVTEKE I QVD I TLKQ I EMT I EKERLRASKSGSFFSCFKGVDGRRTRLACL TWVAQNSSGA  
VLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSL I QYCLGLAGTLGSWV I SGRVGRWT I LTYGLSFQM VCLF I  
I GGMGFASGSSASNAAGLLLALSFFYNAG I GAVVYC I VAE I PSAELRKT I VLAR I CYNLMAV  
FNA I LTPYMLNVSDWNWGAKTGLYWGGFTALTLAWV I IDLPETTGRTFGE I NELFSQGV PARKF  
ASTVVD PFGKRGLQNR PQVDN I DRFSSASQQAL .

10

【 0 2 6 2 】

配列番号 3 3

ハイブリッド酵母 7 由来の短い I M A 1 のアミノ酸配列

MGYD I ANYEKVWPTYGTNEDCFAL I EKTHKLG MKF I TDLV I NHC SSEHEWFKESR SSKTNP KR D  
WFFWRPPKGYDAEGKP I PPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLR LFCSTQPD LN WENEDCRKA I Y  
ESAVGYWLDHGV DGFRI DVGSLYSKV VGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPR I HEFHQEMNQF  
I RNRVKDGRE I MTVGEMQHASETKR LYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSP LFRYNLVPFELKD  
WK I ALAELFRF I NGTDCWST I YLENHDQPRS I TRFGDDSPKNRV I SGKLLSVLLSALTGTLYVY  
QGQELGQ I NFNKWSVEKYEDVE I RN NYRL I KEECGENSEEMK KFL EG I ALVSRDHARTPMPWTP  
NEPNAGFSGPNTK PWFYLNESFRQG I NVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRKNHKD I AVYGFDFKF  
I DLNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFK I PNDGSSFKLEFGNYPKNEVDASSRTLKPW  
EGR I H I NE .

20

【 0 2 6 3 】

配列番号 3 4

ハイブリッド酵母 1 由来の I M A 5 のアミノ酸配列

MT I IHNPKWWWKEATVYQ I YPASNKDSNNDGWGDLAG I TSKLDYVKELGVDA I WVCLFYDSPQED  
MGYD I ANYEKVWPRYGTNEDCFQM I EEAHKRG I KV I VDLV I NHCSEEHEWFKESK SSKTNP KR D  
WFFWRPPKGFDEKGNP I PPNNWRSFFGGSAWRYDEKTGEFFLHV FAPGQPDFN WENE ECRKA I Y  
DSSVGYWLRHNV DGFRI DVGSMYSKVEGLPDAP I TDPTVPYQKGTEFF I NGPR I HEYHKEMRKY  
MLSQ I PEGKE I MTVGEVGVGNEEDFRDY TSAKEGELNMMFNFKHTSVGESPECKYEL I PFTLKD  
FKLALAESFLF I ENTDCWST I YLENHDQPRS VSRFGSDSPKWRA I SSKMLATL I I SLTGTVF I Y  
QGQELGMSNFKNRR I EQ I KCVEGTGT YAA I KR DYGEDSEKMKKFF EALAL I SRDHGRTPFPWSA  
DEPSAGFSKDAKPW I DMNESFRDG I NAEAE LKDKNSVFFF WKKALQVRKEHKD I LVYGHNFQF I  
DLNDKLFMFTKDTDNKMF AVFNFS SNTDFSVPDNEASYTMFFGNYANSNGDSRTLQPWEGR  
LYLLK

30

40

【 0 2 6 4 】

配列番号 3 5

ハイブリッド S c I M A 5 ハイブリッド 7 対立遺伝子のアミノ酸配列

MT I IHNPKWWWKEATVYQ I YPASNKDSNNDGWGDLAG I TSKLDYVKELGVDA I WVCLFYDSPQED  
MGYD I ANYEKVWPRYGTNEDCFQM I EEAHKRG I KV I VDLV I NHCSEEHEWFKESK SSKTNP KR D  
WFFWRPPKGFDEKGNP I PPNNWRSFFGGSAWRYDEKTGEFFLHV FAPGQPDFN WENE ECRKA I Y  
DSSVGYWLRHNV DGFRI DVGSMYSKVEGLPDAP I TDPTVPYQKGTEFF I NGPR I HEYHKEMRKY  
MLSQ I PEGKE I MTVGEVGVGNEEDFRDY TSAKEGELNMMFNFKHTSVGESPECKYEL I PFTLKD  
FKLALAESFLF I ENTDCWST I YLENHDQPRS VSRFGSDSPKWRA I SSKMLATL I I SLTGTVF I Y

50

QQQELGMSNFKNRR I EQ I KCVEGTGTYYAA I KR DYGEDSEKMKKFFEALAL I SRDHGRTPPFWSA  
DEPSAGFSKDAKPW I DMNESFRDG I NAEAE LKDKNSVFFFWKALQVRKEHKD I LVYGHNFQF I  
DLDNDKLFMFTKDTDNKKMFAVFNFSNDNTDFSVDPDNEASYTMFFGN YANSNGDSRTLQPWEGR  
LYLLK.

【 0 2 6 5 】

配列番号 3 6

非 S c I M A 5 ハイブリッド 7 対立遺伝子のアミノ酸配列  
ゲノム配列から最初の 6 つのアミノ酸が喪失している。

PKWWWKEAT I YQ I YPASFKDSNNDGWGLAG I TSKLDY I KELGVDA I WVCPFYDSPQEDMGYD I A  
NYEKVWPRYGTSEDCFQM I EESHKRG I KV I VDLV I NHCSEEHEWFKESRSSKTNKRDRWFFWKP  
PKGYE I DGTP I PPNNWRSF FGGSAWKYDENTEEFFLHV FAPGQPDFN WENKECRQA I YDSSVGF  
WLRHNV DGF R I DVGSMYSKVEGLPDAS I TDPTVPYQDGTDFVNGPR I HEYHKEMRQMYTQ I P  
EGKE I MTVGEVG I GNEKDFKDY TSSKEEEFNMMFNFKHTSVGESPEFKYEL I PFTLKDFKLALA  
ESFLF I EGTDCWST I YLENHDQPRSVSRFGSDSPEWRE I SSKMLATL I I SLTGTVF I YQQQELG  
MPNFKNRK I EQ I KCVEGTGTYYA I KR DYGEDSEKMKKFYEALAL I SRDHGRTPPFWSGEKPYAG  
FSKNAKPW I D I NESFVEG I NAEAE LNDENS VFFFWKRALQVRKEHK NMLVYGNDFQFYDLN EK  
LFMFTKDSGDKKMF AVFNFCSDSTEF SVDPDNKASYDMFFGN YANS D GKS YTLKPWEGRLYYSN.

10

【 0 2 6 6 】

配列番号 3 7

ハイブリッド酵母 7 の S c 対立遺伝子によってコードされた P T R 2 のアミノ酸配列 (不  
完全配列)

NSTERYNLSPSEDEDFEAPTEEMQTLRHVGGK I PMRCWL I A I VELSERFSYYGLSAPFQNYM  
EYGPNDSPKGVLSLNSQGATGLSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWKGKNT I CCGTA I Y I AG I F I  
L F I T S I P S V G N R D S A I G G F I A A I I L I G I A T G M I K A N L S V L I A D Q L P K R K P S I K V L K S G E R V I V D  
S N I T L Q N V F M F F Y F M I N V G S L S L M A T T E L E Y H K G F W A A Y L L P F C F F W I A V V T L I F G K K Q Y I Q R P  
I G D K V I A K S F K V C W I L T K N K F D F N A A K P S V H P E K N Y P W N D K F V D E I K R A L A A C K V F I F Y P I Y W T  
Q Y G T M I S S F I T Q A S M M E L H G I P N D F L Q A F D S I A L I I F I P I F E K F V Y P F I R R Y T P L K P I T K I F F G  
F M F G S F A M T W A A V L Q S F V Y K A G P W Y N E P L G H N T P N H V H V C W Q I P A Y V L I S F S E I F A S I T G L E Y A  
Y S K A P A S M K S F I M S I F L L T N A F G S A I G C A L S P V T V D P K F T W L F T G L A V A C F I S G C L F W L C F R K Y  
N D T E E E M N A M D Y E E E D E F D L N P I S A P K A N D I E I L E P M E S L R S T T K Y .

20

30

【 0 2 6 7 】

配列番号 3 8

ハイブリッド酵母 7 の非 S c 対立遺伝子によってコードされた P T R 2 のタンパク質配列

MLNHLSQGSDD I QDEKQGFVPV I EEEKNQVTTLKDSYVSDDAANSTEHYNLSPSLEEDEFEAPT  
DEELRSLRHVGGK I PMRCWL I A I VELSERFSYYGLSAPFQNYMEYGPKDTPKGVLNSLNSQGATG  
LSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWKGKNT I CCGTA I Y I AG I F I L L I T S I P S V G N R D S A L G G F I A  
S I I L I G I A T G M I K A N L S V L I A D Q L P K R K P S I K V L K S G E R V I V D S N I T L Q N V F M F F Y F M I N V G S L  
S L M A T T E L E Y H K G F W A A Y L L P F C F F W A V V T L V F G K K Q Y I Q R P I G D K V I A K S F R V C W I L T K N K F  
D F N A A K P S V H P E K E Y P W N D K F V D E I K R A L A A C K V F V F Y P I Y W T Q Y G T M I S S F I T Q A G M M E L H G I  
P N D F L Q A F D S I A L I I F I P I F E K F I Y P F I R R Y T P F K P I T K I F F G F M F G S L A M T W A A V L Q S F V Y K A  
G P W Y S A P L G H N T P N H V H V C W Q I P A Y V L I S F S E I F A S I T G L E Y A Y S K A P A S M K S F I M S I F L L T N A  
F G S A I G C A L S P V T V D P K F T W L F T G L A V A C F I S G C L F W C F R K Y N D T E E E M N A M D Y E E E D E F D L N  
P I S Q P K G N D I E I L E P M G S L K S T T K Y .

40

【 0 2 6 8 】

配列番号 3 9

ハイブリッド酵母 7 の S c 対立遺伝子によってコードされた D A L 5 のアミノ酸配列

MSADASTNSNASLDEKNLNI TSEAE I KNEDVTAEPVLSTVLSPNGK I VY I SDKVDEAMKLAEEA  
KE I EVTPEEDRKL RWK I DYCMFPLMC I LYAVQFMDK I STSSAAVMGLRTDLKMHGDQYSWVTSA  
FYFGYLFMNLGPVQF I FQRTSHMSKMLAVF I V I W G M L L A L H A A P T V K Y P S F I V L R V L L G C A E S V  
V T P C F T I I T A Q Y W K T E E Q F T R V S I W F G M N G L G S I L I N A I A Y G V Y I H Q D S Y A I K G W R T L F V I T G V

50

ITIFIGILIFLWIPDDPSKARFLSKREKLMVVQIRSNQQGFGNHEIKKYQIEALKDVRTWLY  
 FLFTVSSNIPNGGISSFMSILLNSDFGYSSKETLLMGLPTGAVELVGCPLFGILAVYAANKKIP  
 FWKYKLSWAIFAAVLALIASCMLGFATNSKKARLAGAYLWYISPVSFICVLSNISANSSGYSKK  
 WTVSSINLVAYAAANLAGPQTFIAKQAPKYHGAKVAMVVCYAVMIVLLSILLIVNLRENKRRDK  
 IAAERGFPEETENLEFSDLTDFENPNFRYTL.

【 0 2 6 9 】

配列番号 4 0

ハイブリッド酵母 7 の非 S c 対立遺伝子によってコードされた D A L 5 のアミノ酸配列

MSGGASTNSNASIDEKNLNIITSEAEIKNEDVYAEPVLSTVLSPNGKVYVYISDKVDEAMKLADAEA  
 KEIEVTPEEDRKLRLWKIDYCMFPLMCILYAVQFMDKISTSSAAVMGLRDTLKMHGDDQYSWVTS  
 FYFGYLFMNLGPVQLIFQKSKHMSKMLAIFIIWGLLLLALHAVPSVKYSSFIALRVLLGCAESV  
 VTPCFTIITAQYWKTEEQFTRISIWFGMNLGSLILINAIAYGVIHQESYAIKWRALFVITGV  
 ITIFVGALIFLWIPDDPSKARFLSKREKLMVVQIRSNQQGFGNHEIKKYQIVEALKDVRTWLY  
 FLFTVSSNIPNGGISSFMSILLNSDFGYLSKDTLLMGLPTGAVELVGCPLFGILAVYAANKKIP  
 FWKYKLAWAIFAAVLALIASCMLGFATSSKKARLAGAYLWYISPVSFICVLSNISANSSGYSKK  
 WTVSSINLAAYAAANLAGPQTFIAKQAPKYHGAKVAMVVCYAVMIVLLSALLLINMRENKRRDK  
 IAAERGYPEETANLEFSDLTDFENPNFRYTL.

10

【 0 2 7 0 】

配列番号 4 1

ハイブリッド酵母 7 の S c 対立遺伝子によってコードされた U B R 1 のアミノ酸配列 (不  
 完全配列)

MSVADDDLGLSQGHIRRTLRSIHNLPHYFRYTRGPTERADMSRALKEFIYRYLYFVINSNGENLP  
 TLFNAHPKQKLSNPELTVFPDSLEDAVDIDKITSQQTIPFYKIDESRIGDVHKHTGRNCGRKF  
 IGEPLYRCHCEGCDTDCVLCIHCFNPKDHNHVVCTDICTEFTSGICDCGDEEAWNSPLHCKAE  
 EQENDISEDPATNADIKEDVWVNDVNIALVELVLAEVFDYFIDVFNQNI EPLPTIQKDIITIKL  
 REMTQQGKMYERAQFLNDLKYENDYMFDTGTTAKTSPSNSPEASPSLAKIDPENYTVIINYDEY  
 HNYQSATTALRQGVDPNVHIDLTSRIDGEGRAMLKCSQDSSSVLGGFFAVQTNGLSATLTSWS  
 EYLHQETCKYIILWITHCNLINPNSSFQTTFRNMMGKTLCEYLNATECRDMTPVVEKYFSTKFD  
 KNDPYRYIDLSILADGNQIPLGHHKILPESSTHLSPLINDVETPTSRTYSNTRLQHI LYFDNR  
 YWKRLRKDIQNVIIPTLASSNLYKPIFCQQVVEIFNHI TRSVAYMDREPQLTAIRECVVQLFTC  
 PTNAKNI FENQSFLDIVWSIIDIFKEFCKVEGGVLIWQRVQKSNLTKSYSISFKQGLYTVETLL  
 SKVHDPNIPLRPKEIISLLTLCKLFNGAWKIKRKEGEHVLHEDQNFISYLEYTTSIYSIIQTAE  
 KVSEKSKDISDKLFLNARIISSFLGNRSLTYKLIYDSHEVIFKFSVSHERVAFMNPLQTMLSF  
 LIEKVSLKDAYEALEDCSDFLKSDFSLRSVVLCSQIDVGFVWRNGMSVLHQASYKNNP

20

30

【 0 2 7 1 】

配列番号 4 2

ハイブリッド酵母 7 の非 S c 対立遺伝子によってコードされた U B R 1 のアミノ酸配列

MSFTDNLGSLKAHIRRTLRSIHNLPHYFRFTRGPTERADMSRALKEFIYRYLYFIISNDGENLS  
 TLFTAHPKQKSSNQELAVFPESLEDAVDVKITSQGTFFPYKIDESRIGDVHKHTGRNCGRKF  
 IGEPLYRCHCEGCDTDCVLCIHCFNPKDHI NHHVCTDICTEFTSGICDCGDEEAWNSLHCKAE  
 EQGNDTSEDPSNFDSTKQKDVWVNDPEICALVELVLESEVFDYFIDVFNQNI EPLPTIQKDIITIKL  
 REMTQQGKMYERAQFLNDLKYENDYMFDTGTTAKTSPSNSPEASPSLAKIDPENYTVIINYDEY  
 HNYQSATTALRQGVDPNVHIDLTSRIDGEGRAMLKCSQDLSSVLGGFFAVQTNGLSATLTSWS  
 EYLHQEACKYIILWITHCNLINPNPSFQITFRNMMGKSLCSEYLNATESRDMTPVVEKYFSTKFD  
 KDDPYRYIDLSVLAEGNQIPLGHHKVLPESSSTHLSSTLINDVENLTSKEYSNTRLQHI LYFDNR  
 YWKRLRKDIQNVIIPTLASSNLYKPIFCQQVVEIFNHI TRSVAYMDREPQLTAIRECVVQLFTC  
 PTNTRNIFENQSFLDIVLSIIDIFKEFCKVEAGVLIWQRVQKSNLTKSYSLSFKQGLYTVETLL  
 SKVNDPNIITIRPKVFI SLLTLGKLFNGAWKIKRKEGEHVLHEDQNFISYLEYTTSIYSIIQTAE  
 KVLEKSHDSLNLVLAIRIVSSFLGNRSLTYKLIYDSHEIIFKFSVSHERVAFMNPIQTMLSF  
 LIEKVSLKDAYESLENCDFLKIADFSLSRSVVLCSQIDVGFVWRNGMSVLHQASYKNNPELGS

40

50

YSRDIHLNQLAIIWERDDLPRVIYNI LDRWELLDWFMGEAEYQHTVYEDKISFMIQQFIAFIYQ  
 I LTERQYFKTFSLLRDRRMDMIKNSIMYNYLMKPLSYSKLLKSPDYLTDDTTEFDEALEEVS  
 FVEPKGLADNGVFKLKAALYAKIDPLKLLNLENEFESSATIIKTHLAKNKDEVSKVVLIPQVST  
 KLLDKGAMNLGEFTRNTVFAKVIYKLLQVCLDMEDSTFLNELLHLVHGI FKDDELINGKDSIPE  
 AYLAKPICNLLLSIANAKSDIFSESIVRKADYLLEKMI MKKPDEIFESLIASFNGQYIDNYKDK  
 KLSQGVNLQETEKERKRMAKKHARLLAKFNNQQSKFMKEHESEFDEQDNDVMDGEEKVYESE  
 DFTCALCQDSSSTDFVVI PAYHDHTPIFRPGNI FNPREFMAKWDGFYNDDDKQAYIDDEVLESL  
 KENGRTRGSRKVFVSCNHHIHHNCFKRYVQKKRFSSNAFICPLCQTFSNCTLPI CPTSRANTGLS  
 LDMFLKSELSLDILSRLFKPFTEDNYRTINSIFSLMVSQCQGFQVVRKHVNFTHKDVSLVLSV  
 HWANTISMLEVASRLEKPHNISFFRSREQKYKTLKNI L I C I MLFTFVI GKPSMEFEPYVESDI  
 ICNQQLFQYIVRKS L F SPASLRETITEALTVFCKQFLDDFVQGLSDAEQVDKLYTEAKKLGDV  
 YNVDESILITLMSITVVKTEGLESRSYDLAYTSLLKSLPTIRRCLVMVKVLHELKDSENET  
 MVIDGFDVEEELEFEGLPGFVDKALKLITDKESFVDLFKTKQAVPSHPYLERIPYEYCGIVKL  
 IDLSKFLNTYVTQSKEIKLREERSQHMKNADNRLDFKICLTCGVKVLHRADRHEMTKHLNKNCF  
 KSGAFLMPSSEVCLHLTQPPSNI FVSAPYLNSHGEGVGRNAMRRGDLTTLNLKRYEHLNRLWI  
 NNEIPGYISRVMGDEFVRTILSNGFLFAFNREPRRVPPTDEDEDMEEGEEGFFTEENDMD  
 VDEETGQAANLFGVGAEGIGDGGVRNFFQFFENFRNTLQPQGNDEEDAPQNPPPILQFLGPQFD  
 GATIRNTNQRNLDEDDSENDDSDEREIW.

10

【 0 2 7 2 】

配列番号 4 3

20

ハイブリッド酵母 1 の S c 対立遺伝子によってコードされた P T R 2 のアミノ酸配列

MLNHPSQGSDDAQDEKQGDFPVI EEEKTQAVMLKDSYVSDDVANSTERYNLSPSEDEDFEAPT  
 EEMQTLRHVGGKIPMRCWLI A I VELSERSFYGLSAPFQNYMEYGPNDSPKGVLSLNSQGATG  
 LSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWGKYNTICCGTAIYIAGIFILFITSIPSVGNRDSAIGGFI A  
 A I I L I G I A T G M I K A N L S V L I A D Q L P K R K P S I K V L K S G E R V I V D S N I T L Q N V F M F F Y F M I N V G S L  
 S L M A T T E L E Y H K G F W A A Y L L P F C F F W I A V V T L I F G K K Q Y I Q R P I G D K V I A K S F K V C W I L T K N K F  
 D F N A A K P S V H P E K N Y P W N D K F V D E I K R A L A A C K V F I F Y P I Y W T Q Y G T M I S S F I T Q A S M M E L H G I  
 P N D F L Q A F D S I A L I I F I P I F E K F V Y P F I R R Y T P L K P I T K I F V G F M F G S F A M T W A A V L Q S F V Y K A  
 G P W Y N E P L G H N T P N H V H V C W Q I P A Y V L I S F S E I F A S I T G L E Y A Y S K A P A S M K S F I M S I F L L T N A  
 F G S A I G C A L S P V T V D P K F T W L F T G L A V A C F I S G C L F W L C F R K Y N D T E E E M N A M D Y E E E N E F D L N  
 P I S A P K A N D I E I L E P M D S L R S T T K Y .

30

【 0 2 7 3 】

配列番号 4 4

ハイブリッド酵母 1 の非 S c 対立遺伝子によってコードされた P T R 2 のアミノ酸配列

MLNHL SQGSDDIQDEKQGDFPVI EEEKNQVTTLKDSYVSDDAANSTEHYNLSPSLEEDEFEAPT  
 DEELRSLRHVGGKIPMRCWLI A I VELSERSFYGLSAPFQNYMEYGPKDTPKGVLSLNSQGATG  
 LSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWGKYNTICCGTAIYIAGIFILLITSIPSVGNRDSALGGFI A  
 S I I L I G I A T G M I K A N L S V L I A D Q L P K R K P S I K V L K S G E R V I V D S N I T L Q N V F M F F Y F M I N V G S L  
 S L M A T T E L E Y H K G F W A A Y L L P F C F F W A V V T L V F G K K Q Y I Q R P I G D K V I A K S F R V C W I L T K N K F  
 D F N A A K P S V H P E K E Y P W N D K F V D E I K R A L A A C K V F V F Y P I Y W T Q Y G T M I S S F I T Q A G M M E L H G I  
 P N D F L Q A F D S I A L I I F I P I F E K F I Y P F I R R Y T P F K P I T K I F F G F M F G S L A M T W A A V L Q S F V Y K A  
 G P W Y S A P L G H N T P N H V H V C W Q I P A Y V L I S F S E I F A S I T G L E Y A Y S K A P A S M K S F I M S I F L L T N A  
 F G S A I G C A L S P V T V D P K F T W L F T G L A V A C F I S G C L F W F C F R K Y N D T E E E M N A M D Y E E E D E F D L N  
 P I S Q P K G N D I E I L E P M G S L K S T T K Y .

40

【 0 2 7 4 】

配列番号 4 5

ハイブリッド酵母 1 の S c 対立遺伝子によってコードされた U B R 1 の部分アミノ酸配列

MSVADDDLGS LQGH I RRTLRS I HNL PYFRYTRGPTERADMSRALKEFI YRYLYFV I SNSGENLP  
 TLFNAHPKQKLSNPELTVFPDSLEDAVD I DK I TSQQT I PFYK I DESR I GDVHKHTGRNCGRKFK  
 I GEPLYRCHECGDDTCVLC I HCFNPKDHNHVVCTD I CTEFTSG I CDCGDEEAWNSPLHCKAE

50

EQENDISED PATNADI KEEDVWNSVNI ALVELVLAEVFDYFIDVFNQNI EPLPTIQKDITIKL  
 REMTQQGKMYERAQFLNDLKYENDYMFDTTAKTSPSNSPEASPLAKIDPENYTVI IYNDEY  
 HNYSQATTALRQGVDPNVHIDLTSRIDGEGRAMLKCSQDL.

【0275】

条項

本願発明は、以下の条項によって、さらに定義をすることができる。

【0276】

1. 以下の特性のうち少なくとも1つを有する酵母細胞：

II. パノースを唯一の炭素源として資化することができる、

III. 1つ以上のジペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる。

10

【0277】

2. 特性II及びIIIの両方を有する条項1に記載の酵母細胞。

【0278】

3. 酵母細胞が、

I. イソマルトースを唯一の炭素源として資化することができる、

という特性をさらに有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0279】

4. 前記酵母細胞が、イソマルトースを、前記イソマルトースが1～5 g/Lの範囲内、1～3 g/Lの範囲など、例えば、2 g/Lの濃度で存在している場合に、唯一の炭素源として資化することができる先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

20

【0280】

5. 前記酵母細胞が、パノースを、前記パノースが1～5 g/Lの範囲内、1～3 g/Lの範囲など、例えば、2 g/Lの濃度で存在している場合に、唯一の炭素源として資化することができる先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0281】

6. 前記酵母細胞が、麦汁に含まれる少なくとも45%のパノースを除去することができる先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0282】

7. 前記酵母細胞が、16 で、5日間のインキュベーションした後、麦汁に含まれる少なくとも50%のパノースを除去することができる先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

30

【0283】

8. 前記酵母細胞が、

III. 1つ以上のジペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる、

という特性をさらに有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0284】

9. 1つ以上の前記ジペプチド類が、Met-Tyr、Leu-Tyr、Val-Met、Phe-Tyr、Ile-Leu及びIle-Asnからなる群から選択される先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0285】

10. 1つ以上の前記ジペプチド類が、式Ala-Xaaのジペプチド類であり、Xaaが任意のアミノ酸を示す条項1～8のいずれか1項に記載の酵母細胞。

40

【0286】

11. Xaaが、Glu、Gly、His及びThrからなる群から選択されるアミノ酸である条項10に記載の酵母細胞。

【0287】

12. 1つ以上の前記ジペプチド類が、Gly-Arg、Ile-Asn、Lys-Tyr、Met-Lys、Val-Ala、Val-Asn、Val-Gly、Val-Gln、Val-Met及びVal-Serからなる群から選択される条項1～8のいずれか1項に記載の酵母細胞。

50

## 【0288】

13．1つ以上の前記ジペプチド類が、式Val - Xaaのジペプチド類であり、Xaaが任意のアミノ酸を示す条項1～8のいずれか1項に記載の酵母細胞。

## 【0289】

14．酵母細胞が、さらに、アラントインを唯一の窒素源として資化することができる先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

## 【0290】

15．酵母細胞が、

IV．1つ以上のトリペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる、という特性をさらに有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

10

## 【0291】

16．前記トリペプチド類の一つが、Gly - Gly - Glyである条項15に記載の酵母細胞。

## 【0292】

17．酵母細胞が、

V．5日間、前記酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、1つ以上のアミノ酸のレベルを、出発濃度の10%をこえないレベルにまで下げることができる、

という特性をさらに有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

20

## 【0293】

18．酵母細胞が、5日間、前記酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、少なくとも12、少なくとも13など、例えば、少なくとも14の異なるアミノ酸のレベルを、出発濃度の10%未満にまで下げることができる、先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

## 【0294】

19．酵母細胞が、5日間、前記酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、総アミノ酸レベルを、出発濃度の30%未満、25%未満などにまで下げることができる、先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

## 【0295】

20．酵母細胞が、5日間、前記酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、Met、Val、Ile、Leu及びPheのすべてのアミノ酸のレベルを、出発濃度の10%未満、好ましくは5%未満、さらにいっそう好ましくは多くとも2%にまで下げることができる、先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

30

## 【0296】

21．酵母細胞が、6日間、前記酵母細胞の成長を許容する条件下で、インキュベーションした後に、Met、Val、Ile、Leu及びPheの総アミノ酸レベルを、多くとも400mg/L、多くとも100mg/Lなど、多くとも50mg/Lなど、例えば、多くとも10mg/Lにまで下げることができる、先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

## 【0297】

22．酵母細胞が、

VI．前記酵母細胞が、少なくとも10度のプラウト糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、ジアセチルが、所定のレベルになるまでインキュベーションされる場合に、プラウト度当たり、少なくとも4.7プロミルのエタノールを生成することができる、

という特性をさらに有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

40

## 【0298】

23．前記酵母細胞が、

VII．前記酵母細胞が、少なくとも10度のプラウト糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、ジアセチルが、所定のレベルになるまでインキュベーションされ

50

る場合に、少なくとも70など、少なくとも68の真正発酵度で糖を発酵させることができる、

という特性をさらに有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0299】

24．酵母細胞が、特性VIIを有し、特性VIIは、酵母細胞は、その親株のうちの1つのRDFより少なくとも1だけ高いRDFで糖を発酵させることができることである先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0300】

25．酵母細胞が、

VIII．メリビオースを唯一の炭素源として資化することができる、

という特性をさらに有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

10

【0301】

26．酵母細胞が、

X．前記酵母細胞が、少なくとも10度のプラウト糖含量を有する麦汁組成物に対して添加され、及び、4日間、インキュベーションされる場合に、多くとも1,000万個の細胞/mlなど、多くとも1,200万個の細胞/mlが懸濁して、沈降できる、

という特性をさらに有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0302】

27．懸濁液での細胞数/mlが、前記細胞の成長が許容される条件下で5日間のインキュベーションを行った後の出発細胞数/mlの多くとも80%、多くとも70%など、例えば、多くとも60%、多くとも50%など、例えば、多くとも40%である条項26に記載の酵母細胞。

20

【0303】

28．酵母細胞が、

IX．イソマルトース、パノース、及び/または、メリビオースに加えて、1つ以上の二糖及び/または三糖を資化することができる、

という特性をさらに有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0304】

29．二糖が、コージビオース、ニゲロース、スクロース、ツラノース、ロイクロース、及び、パラチノースからなる群から選択される条項28に記載の酵母細胞。

30

【0305】

30．前記二糖が、コージビオースである条項28に記載の酵母細胞。

【0306】

31．前記酵母細胞が、コージビオースを、前記コージビオースが、1~5g/Lの範囲、1~3g/Lの範囲など、例えば、2g/Lの濃度で存在している場合、唯一の炭素源として資化することができる先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0307】

32．前記二糖が、マルツロースである条項28に記載の酵母細胞。

【0308】

33．前記酵母細胞が、マルツロースを、前記マルツロースが、1~5g/Lの範囲、1~3g/Lの範囲など、例えば、2g/Lの濃度で存在している場合、唯一の炭素源として資化することができる先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

40

【0309】

34．三糖が、マルトトリオース及びイソマルトトリオースからなる群から選択される条項28に記載の酵母細胞。

【0310】

35．酵母細胞が、マルトトリオースを、前記マルトトリオースが、1~5g/Lの範囲、1~3g/Lの範囲など、例えば、2g/Lの濃度で存在している場合、唯一の炭素源として資化することができる先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0311】

50

36．酵母細胞が、

XI．長くとも4日間、例えば、長くとも3日間の一次発酵で麦汁を発酵することができる、

という特性をさらに有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0312】

37．前記一次発酵の時期が、1,000万~2,000万個の生存細胞/mlの範囲で、10度のプラート~20度のプラート糖含量を有する麦汁にピッチングした後に決定される条項36に記載の酵母細胞。

【0313】

38．酵母細胞が、

I．DAL5をコードする遺伝子を含む、

遺伝子型を有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0314】

39．I．DAL5をコードする遺伝子を含む、遺伝子型を有する酵母細胞。

【0315】

40．遺伝子型Iが、前記酵母細胞が、DAL5をコードする少なくとも1つの対立遺伝子を含むものであって、DAL5をコードする前記対立遺伝子が、配列番号6のDAL5、配列番号39のDAL5、配列番号40のDAL5、及び、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択されるDAL5をコードすることである条項38~39のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0316】

41．遺伝子型Iが、前記酵母細胞が、配列番号6のDAL5をコードする少なくとも1つの対立遺伝子、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を上記の配列と共有する、それらの機能的相同体を含むことである条項38~40のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0317】

42．酵母細胞が、特性III、例えば、条項8~14のいずれか1項で定義される特性IIIをさらに有する条項38~41のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0318】

43．酵母細胞が、特性IV、例えば、条項15~16のいずれか1項で定義される特性IVをさらに有する条項38~42のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0319】

44．酵母細胞が、特性V、例えば、条項17~21のいずれか1項で定義される特性Vをさらに有する条項38~43のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0320】

45．酵母細胞が、

II．PTR2をコードする少なくとも2つの対立遺伝子を含む、

遺伝子型を有する先行条項のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0321】

46．II．PTR2をコードする少なくとも2つの対立遺伝子を含む遺伝子型を有する酵母細胞。

【0322】

47．前記PTR2が、配列番号7のPTR2、配列番号8のPTR2、配列番号9のPTR2、及び、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらの各々の機能的相同体からなる群から選択することができる条項45~46のいずれか1項に記載の酵母細胞。

10

20

30

40

50

## 【 0 3 2 3 】

48．前記遺伝子型 I I が、前記酵母細胞が、配列番号 7 の P T R 2、配列番号 8 の P T R 2、配列番号 9 の P R T 2、配列番号 3 7 を含む P R T 2、配列番号 3 8 の P R T 2、配列番号 4 3 の P R T 2、配列番号 4 4 の P R T 2、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらの各々の機能的相同体をコードする遺伝子からなる群から個別に選択される P T R 2 をコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子を含むことである条項 4 5 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

## 【 0 3 2 4 】

49．遺伝子型 I I が、前記酵母細胞が、以下の 3 つの遺伝子を含むことである条項 4 5 ~ 4 8 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞：

1) 配列番号 7 の P R T 2、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、

2) 配列番号 8 の P R T 2、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、

3) 配列番号 9 の P R T 2、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

## 【 0 3 2 5 】

50．酵母細胞が、遺伝子型 I、例えば、条項 3 9 ~ 4 1 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 I をさらに有する条項 4 5 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

## 【 0 3 2 6 】

51．酵母細胞が、特性 I I I、例えば、条項 8 ~ 1 4 のいずれか 1 項で定義される特性 I I I をさらに有する条項 4 5 ~ 5 0 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

## 【 0 3 2 7 】

52．前記酵母細胞が、特性 I V、例えば、条項 1 5 ~ 1 6 のいずれか 1 項で定義される特性 I V をさらに有する条項 4 5 ~ 5 1 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

## 【 0 3 2 8 】

53．前記酵母細胞が、特性 V、例えば、条項 1 7 ~ 2 1 のいずれか 1 項で定義される特性 V をさらに有する条項 4 5 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

## 【 0 3 2 9 】

54．酵母細胞が、  
I I I、U B R 1 をコードする遺伝子を含む、  
遺伝子型を有する先行条項のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

## 【 0 3 3 0 】

55．I I I、U B R 1 をコードする遺伝子を含む遺伝子型を有する酵母細胞。

## 【 0 3 3 1 】

56．遺伝子型 I I I が、前記酵母細胞が、配列番号 1 0 を含む U B R 1、配列番号 1 1 の U B R 1、配列番号 4 1 を含む U B R 1、配列番号 4 2 の U B R 1、配列番号 4 5 を含む U B R 1、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体をコードする遺伝子からなる群から個別に選択される U B R 1 をコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子を含むことである条項 5 4 ~ 5 5 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

## 【 0 3 3 2 】

57．遺伝子型 I I I が、前記酵母細胞が、配列番号 1 0 を含む U B R 1、配列番号 1 1 の U B R 1、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、そ

10

20

30

40

50

これらのいずれかの機能的相同体をコードする遺伝子からなる群から選択される U B R 1 をコードする遺伝子を含むことである条項 5 4 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 3 3 】

5 8 . 遺伝子型 I I I が、酵母細胞が、以下の 2 つの遺伝子を含むことである、条項 5 4 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞：

1) 配列番号 1 0 の U B R 1、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、

2) 配列番号 1 1 の U B R 1、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

10

【 0 3 3 4 】

5 9 . 酵母細胞が、遺伝子型 I、例えば、条項 3 9 ~ 4 1 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 I をさらに有する条項 5 4 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 3 5 】

6 0 . 酵母細胞が、遺伝子型 I I、例えば、条項 4 6 及び 4 9 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 I I をさらに有する条項 5 5 ~ 5 9 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 3 6 】

6 1 . 酵母細胞が、特性 I I I、例えば、条項 8 ~ 1 4 のいずれか 1 項で定義される特性 I I I をさらに有する条項 5 5 ~ 6 0 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

20

【 0 3 3 7 】

6 2 . 酵母細胞が、特性 I V、例えば、条項 1 5 ~ 1 6 のいずれか 1 項で定義される特性 I V をさらに有する条項 5 5 ~ 6 1 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 3 8 】

6 3 . 酵母細胞が、特性 V、例えば、条項 1 7 ~ 2 1 のいずれか 1 項で定義される特性 V をさらに有する条項 5 5 ~ 6 2 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 3 9 】

6 4 . 酵母細胞が、  
I V . I M A 1 p をコードする少なくとも 4 つなどの少なくとも 3 つの遺伝子を含む、

30

遺伝子型を有する先行条項のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 4 0 】

6 5 . I V . I M A 1 p をコードする少なくとも 4 つなどの少なくとも 3 つの遺伝子を含む、 遺伝子型を有する酵母細胞。

【 0 3 4 1 】

6 6 . I M A 1 p が、配列番号 1 2 の I M A 1 p、配列番号 1 3 の I M A 1 p、配列番号 1 4 の I M A 1 p、配列番号 1 5 の I M A 1 p、配列番号 2 1 の I M A 1 p、配列番号 2 2 の I M A 1 p、配列番号 2 3 の I M A 1 p、配列番号 2 4 の I M A 1 p、配列番号 2 5 の I M A 1 p、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される条項 6 4 及び 6 5 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

40

【 0 3 4 2 】

6 7 . 遺伝子型 I V が、酵母細胞が、 I M A 1 の少なくとも 2 つの短い対立遺伝子を含み、 I M A 1 の前記 2 つの短い対立遺伝子が、配列番号 1 2 の I M A 1 p、配列番号 1 3 の I M A 1 p、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される I M A 1 p をコードする条項 6 4 ~ 6 6 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 4 3 】

50

68. 遺伝子型 I V が、前記酵母細胞が、I M A 1 の少なくとも 3 つの短い対立遺伝子を含むことであり、それらが、配列番号 1 2 の I M A 1 p、配列番号 1 3 の I M A 1 p、配列番号 1 の I M A 1 p、配列番号 2 の I M A 1 p、配列番号 3 の I M A 1 p、配列番号 4 の I M A 1 p、配列番号 5 の I M A 1 p、配列番号 3 3 の I M A 1 p、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から個別に選択される I M A 1 p をコードする遺伝子である条項 6 4 ~ 6 7 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。個々の遺伝子

【 0 3 4 4 】

69. 遺伝子型 I V が、酵母細胞が、I M A 1 の少なくとも 2 つの長い対立遺伝子を含むことであり、I M A 1 の前記 2 つの長い対立遺伝子が、配列番号 1 4 の I M A 1 p、配列番号 1 5 の I M A 1 p、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される I M A 1 p をコードする条項 6 4 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 4 5 】

70. 遺伝子型 I V が、前記酵母細胞が、I M A 1 の少なくとも 3 つの短い対立遺伝子及び I M A 1 の少なくとも 2 つの長い対立遺伝子を含むことであり、

a) I M A 1 の前記 3 つの短い対立遺伝子が、配列番号 1 2 の I M A 1 p、配列番号 1 3 の I M A 1 p、配列番号 1 の I M A 1 p、配列番号 2 の I M A 1 p、配列番号 3 の I M A 1 p、配列番号 4 の I M A 1 p、配列番号 5 の I M A 1 p、配列番号 3 3 の I M A 1 p、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される I M A 1 p を個々にコードする遺伝子であり、及び

b) I M A 1 の前記 2 つの長い対立遺伝子が、配列番号 1 4 の I M A 1 p、配列番号 1 5 の I M A 1 p、配列番号 2 1 の I M A 1 p、配列番号 2 2 の I M A 1 p、配列番号 2 3 の I M A 1 p、配列番号 2 4 の I M A 1 p、配列番号 2 5 の I M A 1 p、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される I M A 1 p を個々にコードする遺伝子である、

条項 6 4 ~ 6 9 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 4 6 】

71. 遺伝子型 I V が、酵母細胞が、I M A 1 p をコードする少なくとも 5 つの遺伝子を含むことであり、前記遺伝子が、配列番号 1 の I M A 1 p、配列番号 2 の I M A 1 p、配列番号 3 の I M A 1 p、配列番号 4 の I M A 1 p、配列番号 5 の I M A 1 p、配列番号 1 2 の I M A 1 p、配列番号 1 3 の I M A 1 p、配列番号 1 4 の I M A 1 p、配列番号 1 5 の I M A 1 p、配列番号 2 1 の I M A 1 p、配列番号 2 2 の I M A 1 p、配列番号 2 3 の I M A 1 p、配列番号 2 4 の I M A 1 p、配列番号 2 5 の I M A 1 p、及び、配列番号 3 3 の I M A 1 p をコードする遺伝子からなる群から個別に選択される条項 6 4 ~ 7 0 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 4 7 】

72. 遺伝子型 I V が、酵母細胞が、以下の 4 つの遺伝子を含むことである、条項 6 4 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞：

1) 配列番号 1 2 の I M A 1 p、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

2) 配列番号 1 3 の I M A 1 p、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

10

20

30

40

50

3) 配列番号14のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

4) 配列番号15のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

【0348】

73. 遺伝子型IVが、配列番号21のIMA1p、配列番号22のIMA1p、配列番号3のIMA1p、配列番号24のIMA1p、配列番号25のIMA1p、及び、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、  
10 少なくとも98%など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択されるIMA1pをコードする少なくとも3つの長い対立遺伝子の存在である条項64~72のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0349】

74. 遺伝子型IVが、酵母細胞が、以下の3つの遺伝子を含むことである条項64~73のいずれか1項に記載の酵母細胞：

1) 配列番号21のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体の双方をコードする2つの遺伝子、及び

2) 配列番号22のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。  
20

【0350】

75. 遺伝子型IVが、酵母細胞が、以下の3つの遺伝子を含むことである条項64~74のいずれか1項に記載の酵母細胞：

1) 配列番号23のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体の双方をコードする遺伝子、及び

2) 配列番号24のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体の双方をコードする遺伝子、及び  
30

3) 配列番号25のIMA1p、または、少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、少なくとも98%など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体の双方をコードする遺伝子。

【0351】

76. 酵母細胞が、遺伝子型I、例えば、条項39~41のいずれか1項で定義される遺伝子型Iをさらに有する条項64~75のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0352】

77. 酵母細胞が、遺伝子型II、例えば、条項46~49のいずれか1項で定義される遺伝子型IIをさらに有する条項64~76のいずれか1項に記載の酵母細胞。  
40

【0353】

78. 酵母細胞が、遺伝子型III、例えば、条項55及び58のいずれか1項で定義される遺伝子型IIIをさらに有する条項64~77のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0354】

79. 酵母細胞が、特性I、例えば、条項3~4のいずれか1項で定義される特性Iをさらに有する条項64~78のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0355】

80. 酵母細胞が、特性II、例えば、条項1及び5~7のいずれか1項で定義される特性IIをさらに有する条項64~79のいずれか1項に記載の酵母細胞。

【0356】

10

20

30

40

50

81．酵母細胞が、特性 I X、例えば、条項 28～35 のいずれか 1 項で定義される特性 I X をさらに有する条項 64～80 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【0357】

82．酵母細胞が、

V．I M A 5 p をコードする遺伝子を含む、

遺伝子型を有する先行条項のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【0358】

83．V．I M A 5 p をコードする遺伝子を含む遺伝子型を有する酵母細胞。

【0359】

84．I M A 5 p が、配列番号 16 の I M A 5 p、配列番号 17 の I M A 5 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される条項 82 及び 83 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

10

【0360】

85．I M A 5 p が、配列番号 34 の I M A 5 p、配列番号 35 の I M A 5 p、配列番号 36 の I M A 5 p、及び、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される条項 82 及び 83 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【0361】

20

86．遺伝子型 V が、酵母細胞が、配列番号 16 の I M A 5 p、または、配列番号 17 の I M A 5 p、または、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体をコードする少なくとも 2 つの遺伝子を含むことである条項 82～85 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【0362】

87．遺伝子型 V が、酵母細胞が、配列番号 16 の I M A 5 p、または、配列番号 17 の I M A 5 p、配列番号 34 の I M A 5 p、または、配列番号 35 の I M A 5 p、配列番号 36 の I M A 5 p、または、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体をコードする対立遺伝子から個別に選択される I M A 5 p をコードする少なくとも 2 つの対立遺伝子を含む条項 82～86 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

30

【0363】

88．遺伝子型 V が、酵母細胞が、以下の 2 つの遺伝子を含むことである条項 82～87 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞：

1) 配列番号 16 の I M A 5 p、または、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

2) 配列番号 17 の I M A 5 p、または、少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 90%、さらにより好ましくは少なくとも 95%、少なくとも 98% など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

40

【0364】

89．酵母細胞が、遺伝子型 I、例えば、条項 39～41 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 I をさらに有する条項 82～88 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【0365】

90．酵母細胞が、遺伝子型 I I、例えば、条項 46 及び 49 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 I I をさらに有する条項 82～89 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【0366】

91．酵母細胞が、遺伝子型 I I I、例えば、条項 55 及び 58 のいずれか 1 項で定義さ

50

れる遺伝子型 I I I をさらに有する条項 8 2 ~ 9 0 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 6 7 】

9 2 . 酵母細胞が、遺伝子型 I V、例えば、条項 6 4 ~ 7 5 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 I V をさらに有する条項 8 2 ~ 9 1 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 6 8 】

9 3 . 酵母細胞が、特性 I、例えば、条項 3 ~ 4 のいずれか 1 項で定義される特性 I をさらに有する条項 8 2 ~ 9 2 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 6 9 】

9 4 . 酵母細胞が、特性 I I、例えば、条項 1 及び 5 ~ 7 のいずれか 1 項で定義される特性 I I をさらに有する条項 8 2 ~ 9 3 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

10

【 0 3 7 0 】

9 5 . 酵母細胞が、特性 I X、例えば、条項 2 8 ~ 3 5 のいずれか 1 項で定義される特性 I X をさらに有する条項 8 2 ~ 9 4 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 7 1 】

9 6 . 酵母細胞が、

V I . 配列番号 1 8 の A G T 1、配列番号 1 9 の A G T 1、配列番号 2 0 の A G T 1、配列番号 2 6 の A G T 1、配列番号 2 7 の A G T 1、配列番号 2 8 の A G T 1、配列番号 2 9 の A G T 1、配列番号 3 0 の A G T 1、配列番号 3 1 の A G T 1、配列番号 3 2 の A G T 1、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される A G T 1 をコードする少なくとも 3 つの遺伝子を含む、

20

遺伝子型を有する先行条項のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 7 2 】

9 7 . V I . 配列番号 1 8 の A G T 1、配列番号 1 9 の A G T 1、配列番号 2 0 の A G T 1、配列番号 2 6 の A G T 1、配列番号 2 7 の A G T 1、配列番号 2 8 の A G T 1、配列番号 2 9 の A G T 1、配列番号 3 0 の A G T 1、配列番号 3 1 の A G T 1、配列番号 3 2 の A G T 1、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される A G T 1 をコードする少なくとも 3 つの遺伝子を含む、遺伝子型を有する酵母細胞。

30

【 0 3 7 3 】

9 8 . 酵母細胞が、配列番号 1 8 の A G T 1、配列番号 1 9 の A G T 1、配列番号 2 0 の A G T 1、配列番号 2 7 の A G T 1、配列番号 2 8 の A G T 1、配列番号 3 0 の A G T 1、配列番号 3 1 の A G T 1、配列番号 3 2 の A G T 1、及び、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性を上記配列と共有する、それらのいずれかの機能的相同体からなる群から選択される全長 A G T 1 をコードする少なくとも 2 つの遺伝子を含む、条項 9 6 ~ 9 7 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 7 4 】

40

9 9 . 遺伝子型 V I が、酵母細胞が、以下の 3 つの遺伝子を含むことである条項 9 6 ~ 9 8 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞：

1) 配列番号 1 8 の A G T 1、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

2) 配列番号 1 9 の A G T 1、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

3) 配列番号 2 0 の A G T 1、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をそ

50

の配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

【 0 3 7 5 】

1 0 0 . 遺伝子型 V I が、酵母細胞が、以下の 2 つの遺伝子含むことである条項 9 6 ~ 9 9 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞、

1) 配列番号 2 7 の A G T 1、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

2) 配列番号 2 8 の A G T 1、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

10

【 0 3 7 6 】

1 0 1 . 遺伝子型 V I が、酵母細胞が、以下の 3 つの遺伝子を含むことである条項 9 6 ~ 1 0 0 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞、

1) 配列番号 3 0 の A G T 1、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

2) 配列番号 3 1 の A G T 1、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子、及び

3) 配列番号 3 2 の A G T 1、または、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % など、の配列同一性をその配列と共有する、その機能的相同体をコードする遺伝子。

20

【 0 3 7 7 】

1 0 2 . 酵母細胞が、遺伝子型 I、例えば、条項 3 9 ~ 4 1 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 I をさらに有する条項 9 6 ~ 1 0 1 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 7 8 】

1 0 3 . 酵母細胞が、遺伝子型 I I、例えば、条項 4 6 及び 4 9 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 I I をさらに有する条項 9 6 ~ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 7 9 】

1 0 4 . 酵母細胞が、遺伝子型 I I I、例えば、条項 5 5 及び 5 8 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 I I I をさらに有する条項 9 6 ~ 1 0 3 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

30

【 0 3 8 0 】

1 0 5 . 酵母細胞が、遺伝子型 I V、例えば、条項 6 4 ~ 7 5 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 I V をさらに有する条項 9 6 ~ 1 0 4 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 8 1 】

1 0 6 . 酵母細胞が、遺伝子型 V、例えば、条項 8 2 ~ 8 8 のいずれか 1 項で定義される遺伝子型 V をさらに有する条項 9 6 ~ 1 0 5 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 8 2 】

1 0 7 . 酵母細胞が、特性 I、例えば、条項 3 ~ 4 のいずれか 1 項で定義される特性 I をさらに有する条項 9 6 ~ 1 0 6 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

40

【 0 3 8 3 】

1 0 8 . 前記酵母細胞が、特性 I I、例えば、条項 1 及び 5 ~ 7 のいずれか 1 項で定義される特性 I I をさらに有する条項 9 6 ~ 1 0 7 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 8 4 】

1 0 9 . 前記酵母細胞が、特性 I X、例えば、条項 2 8 ~ 3 5 のいずれか 1 項で定義される特性 I X をさらに有する条項 9 6 ~ 1 0 8 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞。

【 0 3 8 5 】

1 1 0 . 飲料を製造するための方法であって、前記方法が、

a . 出発液体を準備すること、

50

- b . 条項 1 ~ 1 0 9 のいずれか 1 項に記載の酵母細胞を準備すること、
- c . 前記出発液体を、前記酵母細胞で発酵し、それにより、飲料を製造すること、  
のステップを含む、方法。

【 0 3 8 6 】

1 1 1 . 出発液体が、大麦の水性エキスを含む条項 1 1 0 に記載の方法。

【 0 3 8 7 】

1 1 2 . 出発液体が、麦芽の水性エキスを含む条項 1 1 0 ~ 1 1 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【 0 3 8 8 】

1 1 3 . 出発液体が、麦汁である条項 1 1 0 ~ 1 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【 0 3 8 9 】

1 1 4 . 発酵が、1 0 ~ 2 0 の範囲の温度で実施される条項 1 1 0 ~ 1 1 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【 実施例 】

【 0 3 9 0 】

本願発明は、以下の実施例によって、さらに例証されているが、本願発明の限定的解釈の根拠とすべきではない。

【 0 3 9 1 】

以下の実施例では、次の酵母株が使用される。

20

【 0 3 9 2 】

【 表 B 】

酵母株の名称	種/説明
ラガー酵母 1	<i>S. pastorianus</i>
ラガー酵母 2	<i>S. pastorianus</i>
エール酵母 1	<i>S. cerevisiae</i>
<i>S. diastaticus</i> 1	<i>S. diastaticus</i>
ハイブリッド酵母 1	エール酵母 1 とラガー酵母 1 との間のハイブリッド
ハイブリッド酵母 2	ラガー酵母 2 とエール酵母 1 との間のハイブリッド
ハイブリッド酵母 3	ラガー酵母 2 とエール酵母 1 との間のハイブリッド
ハイブリッド酵母 4	ラガー酵母 2 とエール酵母 1 との間のハイブリッド
ハイブリッド酵母 5	ラガー酵母 2 とエール酵母 1 との間のハイブリッド
ハイブリッド酵母 6	ラガー酵母 2 とエール酵母 1 との間のハイブリッド
ハイブリッド酵母 7	ラガー酵母 2 とエール酵母 1 との間のハイブリッド
ハイブリッド酵母 8	<i>S. diastaticus</i> 1 とのエール酵母 1 との間のハイブリッド

30

40

【 0 3 9 3 】

ハイブリッド酵母 1 のゲノム配列は、優先権デンマーク特許出願第 P A 2 0 1 4 7 0 8 2 5 号での配列番号 1 として示されている。第 P A 2 0 1 4 7 0 8 2 5 号での配列番号 1 は、ハイブリッド 1 のゲノム配列由来のアセンブリ足場の配列を示す。これらの配列は、FASTAフォーマットで提供されている。この関係で使用される「足場」という用語は、重複したコンティグから再構築したゲノム配列の一部分を指す。この「コンティグ」という用語は、短いDNA断片の再構築に端を発する隣接して重複する配列を指す。

【 0 3 9 4 】

第 P A 2 0 1 4 7 0 8 2 5 号での配列番号 1 は、全部で 1 , 6 2 9 個の足場の配列を示

50

しており、0～1,628の番号付けがされている。第PA201470825号での配列番号1において、各足場での配列は、用語「>Scaffold\_X」で分離表示されており、式中のXは、以下の配列を有する足場の数を表している。

## 【0395】

よって、ハイブリッド酵母1のゲノムは、好ましくは、複数の染色体に及ぶように分布した足場0～1628のすべてを含む。

## 【0396】

ハイブリッド酵母1のゲノム配列は、DDBJ/EMBL/GenBankの受託番号LOQJ00000000のもとで入手可能である。よって、ハイブリッド酵母1に関するホールゲノムショットガンプロジェクトは、DDBJ/EMBL/GenBankに、受託番号LOQJ00000000として寄託されているのである。本明細書に記載のバージョンは、バージョンLOQJ01000000である。

## 【0397】

提出にかかるデータは、以下の通りであった。

## 【0398】

## 【表C】

SUBID	BioProject	BioSample	受託番号
SUB1207553	PRJNA304272	SAMN04297180	LOQJ00000000

## 【0399】

ホールゲノムショットガンプロジェクトは、ハイブリッド酵母1のゲノム配列に由来するアセンブリ足場の配列を示す。この関係で使用される「足場」は、重複したコンティグから再構築したゲノム配列の一部を指す。「コンティグ」という用語は、短いDNA断片の再構築に端を発する隣接して重複する配列を指す。DDBJ/EMBL/GenBankの受託番号LOQJ00000000、バージョンLOQJ01000000は、全部で8919個の足場の配列を示す。よって、ハイブリッド酵母1のゲノムは、好ましくは、複数の染色体に及ぶように分布した足場0～8919のすべてを含む。したがって、本願発明の酵母細胞も、複数の染色体に及ぶように分布した足場0～8919のすべてを含むことができる。

## 【0400】

ハイブリッド酵母7のゲノム配列は、DDBJ/EMBL/GenBankの受託番号LOQK00000000から入手可能である。

## 【0401】

よって、ハイブリッド酵母7に関するホールゲノムショットガンプロジェクトは、DDBJ/EMBL/GenBankに、受託番号LOQK00000000として寄託されているのである。本明細書に記載のバージョンは、バージョンLOQK01000000である。

## 【0402】

提出にかかるデータは、以下の通りであった。

## 【0403】

## 【表D】

SUBID	BioProject	BioSample	受託番号
SUB1208131	PRJNA304273	SAMN04297181	LOQK00000000

## 【0404】

このホールゲノムショットガンプロジェクトは、ハイブリッド酵母7のゲノム配列に由来するアセンブリ足場の配列を示す。この関係で使用される「足場」という用語は、重複

したコンティグから再構築したゲノム配列の一部を指す。「コンティグ」という用語は、短いDNA断片の再構築に端を発する隣接して重複する配列を指す。DDBJ/EMBL/GenBankの受託番号 LOQK00000000、バージョンLOQK01000000は、全部で9492個の足場の配列を示す。よって、ハイブリッド酵母7のゲノムは、好ましくは、複数の染色体に及ぶように分布した足場0~9492のすべてを含む。したがって、本願発明の酵母細胞も、複数の染色体に及ぶように分布した足場0~9492のすべてを含む。

#### 【0405】

##### 実施例1

10hlのビールを、Souffletが提供する市販の麦芽を主成分とする麦汁(16度のプラート)に対して、1,000万個の生細胞/mlの酵母を接種し、次いで、17で、ジアセチルが、ラガービールで異臭の発生を招く閾値に満たないレベルに設定される所定の閾値に到達するまで発酵を行うことによって調製された。本実施例において、ジアセチル閾値は、30ppbに設定された。

#### 【0406】

ラガービールにおいて、ジアセチルや2,3-ペンタンジオンなどの隣接ジケトン類は、閾値濃度を超えて存在すると、好ましくない異臭が発生する。ジアセチル及び2,3-ペンタンジオンは、共に、バタースコッチの芳香を有するが、ジアセチルの閾値は10倍低い。発酵管理作業の一部は、最終ビールでの隣接ジケトン類、特に、ジアセチルが、閾値に到達しないように確認することである。

#### 【0407】

当該酵母細胞は、1つのタンク(9hl規模)で増殖されて、第1の世代のビール、次いで、第2の世代のビール(各々10hl規模)の細胞接種材料を得るために使用された。この増殖の目的は、十分な量の健常で真正な酵母培養物を生産して、実際のビール発酵のための酵母を接種することにある。ビール発酵は、連続発酵で行われ、通常、5~10回の発酵後に、酵母は交換されるが、新たに増殖した酵母の醸造に向けた導入の頻度は、個々の判断による。この連続発酵は、以後のビール発酵のための細胞接種としての役割を果たすものであり、また、この増殖タンクだけが、第1のビール発酵、所謂、第1の世代のビールのための酵母細胞の接種材料を提供することがしばしばある。第1の世代の後に行われたビール発酵は、第2の世代などのように呼ばれる。たいていのビール発酵は、増殖タンク由来の酵母ではなく、先行するビール発酵から得た酵母を用いて実施される。このビール発酵のための細胞接種は、通常、 $10^7$ 個の酵母細胞/mlである。

#### 【0408】

本実施例では、3つの異なる酵母株を使用した。同じ麦汁と発酵条件を利用した。

エール酵母1

ラガー酵母1

ハイブリッド酵母1

#### 【0409】

エール酵母1は、*S. cerevisiae*種の酵母である。ラガー酵母1は、*S. pastorianus*種の酵母である。エール酵母1及びラガー酵母1は、ハイブリダイズされ、そして、ハイブリッド株の1つを選択して、それをハイブリッド酵母1と命名した。

#### 【0410】

表1は、プラートの最終数値を示しており、表2は、%エタノールの%(% v/v)を示しており、及び、表3は、増殖タンク(9hl)の最終段階で3つの酵母株を用いて調製されたビール、及び/または、第1世代及び第2世代のビールに関する、最終ビールのRDF、所定の閾値に満たないジアセチルを有していた日数、第1世代のビール及び第2世代のビールに由来する一次発酵の日数を示す。

#### 【0411】

ハイブリッド株1は、37で成長する能力があり(データ示さず)、及び、16など

10

20

30

40

50

の低温でも旺盛に発酵する(表1～3を参照されたい)。

【0412】

【表1】

表1 プラート値

最終プラート度	ラガー酵母 1	ハイブリッド酵母 1	エール酵母 1
増殖終了時(9h1)、16℃	2.54	1.97	2.03
最終第1の世代、16℃	2.55	2.35	2.48
最終第2の世代、18℃	2.86	2.37	3.36
第1+第2世代の平均	2.7	2.36	2.92

10

【表2-1】

表2 エタノール率(% v/v)

エタノール率(% v/v)	ラガー酵母 1	ハイブリッド酵母 1	エール酵母 1
第1の世代、16℃	7.51	7.64	7.58
第2の世代、18℃	7.33	7.61	7.19
第1+第2世代の平均値	7.42	7.625	7.38

20

【0413】

【表3】

表3

10hL(h1)規模-第1及び第2の世代(ビール02及び03)の平均			
名称(酵母)	ラガー酵母1	ハイブリッド酵母	エール酵母1
麦汁のプラート	15.85	115.85	15.85
発酵温度	16℃及び18℃	16℃及び18℃	16℃及び18℃
ピッチング率	10	10	10
ビールRDF(%)	69.3	71.0	68.9
所定のDAに至る日数	6.5	9	13
一次発酵の日数	5.5	6	9.5

30

【0414】

ピッチング率は、発酵を開始するために細胞接種物として添加された生酵母の量/mlである。ハイブリッド酵母1は、2つの親株(ラガー酵母1及びエール酵母1)と比較して、RDFが2%改善されていた。ハイブリッド酵母1も、低レベルの最終プラートを有していた。

【0415】

ハイブリッド酵母1は、2つの親株と比較して、エタノール収率が、0.2%エタノール以上の改善を示した。ハイブリッド酵母1は、16及び18の両方の温度で、改善された発酵性能を有する。ハイブリッド酵母1は、閾値に満たないジアセチルレベルに到達するまでの短い期間(所定のDAに至る日数)に関して、エール酵母1と比較して、改善

40

50

が認められた。

【0416】

ハイブリッド酵母1は、ラガー酵母1と同じ速度でほとんどの発酵を進めているが(表3の一次発酵の日数を参照されたい)、閾値に満たないジアセチル有する時間が少し長かった(所定のDAに至る日数を参照されたい)。

【0417】

実施例2

凍結ストックからの酵母細胞を、YPDプレートに画線した。それらは、50mlのびんに入った20mlの従来の殺菌済麦芽麦汁に接種するために使用し、22℃の温度で成長させた。20mlの培養物からの細胞培養物は、500mlのびんに入った200mlの体積の麦汁に対する細胞の再ピッチングのために使用し、22℃で成長させた。200mlの体積の麦汁から、1.8Lの増殖タンクへと接種し、1,400万~1,500万個の生細胞/mlの接種と、16または18℃の温度(発酵温度と同じ)で成長させることを目的とした。麦汁を調製するために使用した麦芽は、デンマークのDMGから購入した。

【0418】

全細胞数と生細胞数を、NucleoCounterで計数した。増殖タンクから生細胞の数も計数した。1,400万~1,500万個の生細胞が、15度のプラート糖含量を有する2Lの麦汁に接種するために使用され、6日間、16℃(ハイブリッド酵母2、3及び4と、それらの個別の対照物)または18℃(ハイブリッド酵母1と、その個別の対照物)で発酵させ、所謂、第1世代のビールを得た。第1世代の最後に、1,400万~1,500万個の生細胞を、第2世代のビールを接種するために使用した。インキュベーション4日目に、懸濁液に含まれる細胞の数を決定した。第2世代由来のビールで得られた細胞の数を表4に示す。懸濁液に含まれる細胞の数は、細胞の全体的成長を反映するものではないが、むしろ、凝集及び/または沈降を反映している。懸濁液中の細胞の数は、一般的には、発酵の後期では、できる限り少ない方が好ましく、そのことは、凝集及び/または沈降の増大を示す。プロセスのあまりにも早い段階で凝集が増大すれば、早発凝集を招いてしまい、プロセスの終わる頃には緩慢な発酵となってしまう。

【0419】

【表4a】

表4a. 2L規模で製造した第2の世代のビール。

ここに示した結果は、同じ実験から得た生物学的複製物由来のものである。

18℃での発酵酵母	ピッチング率 100万個/ml	懸濁液での細胞(4日目) 100万個/ml
ラガー酵母1	15	17
ラガー酵母1	15	19
エール酵母1	15	12
エール酵母1	15	22.6
ハイブリッド酵母1	15	3.58
ハイブリッド酵母1	15	3.75

【0420】

ハイブリッド酵母1は、ラガー酵母1よりもバイオマスを多く生成した(採集した酵母のグラム数で測定した)が、ハイブリッド1は、懸濁液に含まれる細胞は依然として少なかった。

【0421】

## 【表 4 b】

表 4 b

16℃発酵 酵母	ピッチング率 100万個/ml	懸濁液での細胞(6日目) 100万個/ml
ラガー酵母 1	14	20
ラガー酵母 1	14	23
エール酵母 1	14	14
エール酵母 1	14	13
ハイブリッド酵母 2	14	2.3
ハイブリッド酵母 2	14	3.2
ハイブリッド酵母 3	14	4.4
ハイブリッド酵母 3	14	3.3
ハイブリッド酵母 4	14	5.8
ハイブリッド酵母 4	14	5
ラガー酵母 2	14	12
ラガー酵母 2	14	23

10

20

## 【0422】

上に示すように、ハイブリッド酵母 2、3 及び 4 は、やや多めのバイオマスを生成した(発酵の最後で採集した細胞のグラム数)が、ラガー酵母よりも、懸濁液に含まれる細胞の数は少なかった。

## 【0423】

別の試験において、ハイブリッド酵母 2 は、6 日間の発酵後に、懸濁液に 700 万/ml の細胞を有したのに対して、エール酵母 1 では、6 日間の発酵後に、懸濁液に 400 万/ml の細胞しか有さず、そして、ラガー酵母 2 では、懸濁液に 3,900 万/ml の細胞

30

## 【0424】

エール酵母 1 及びラガー酵母 1 (ハイブリッド酵母 1) またはラガー酵母 2 (ハイブリッド酵母 2、3、4 及び 7) から作出したハイブリッドは、2 つの親株、すなわち、エール酵母 1 といずれかのラガー株(ラガー酵母 1 または 2) よりも、懸濁液に含まれる細胞の数は少なかった。よって、ハイブリッドは、細胞の沈降を改善した。このことは、ビールプロセスの次世代の細胞の再接種のために回収及び使用されるべき当該酵母細胞ペーストの下流プロセスを回避するために、醸造において興味深いことである。

## 【0425】

さらに別の試験から得た結果が、表 4 c に示されている。明示した酵母細胞が試験された以外は、上記の実験設定にしたがった。

40

## 【0426】

## 【表 4 c】

表 4 c

18℃ 第2の世代の酵母	ピッチング率 100万個/ml	懸濁液での細胞(7日目) 100万個/ml
ラガー酵母2	15.0	26
ラガー酵母2	15.0	28
ハイブリッド酵母7	15.0	4
ハイブリッド酵母7	15.0	8.3
ハイブリッド酵母8	15.0	7.2
ハイブリッド酵母8	15.0	7.5
S. diastaticu	15.0	40
S. diastaticu	15.0	39

10

## 【0427】

## 実施例3

50Lのビールを、従来の麦芽をベースとする麦汁(18度のプラート)に対して、1,000万個の生細胞/mlの酵母を接種し、次いで、18で、発酵を行うことによって調製した。麦汁を調製するために使用した麦芽は、デンマークのDMGから購入した。

20

## 【0428】

2つの異なる酵母株を使用した。同じ麦汁と発酵条件を使用した。

ラガー酵母1

ハイブリッド酵母1

## 【0429】

表5aは、2つの株についてのビールAEの最終値を示しており、50L規模タンクにおいて第1の世代と第2の世代を用いて作られたビールと比較した。

## 【0430】

本明細書において使用するAEは、「外観エキス濃度」のことであり、糖分量の重量%に関するビール麦汁の密度の指標であり、プラート尺度で表現される。

30

## 【0431】

## 【表 5 a】

表 5 a

ラガー 1 対ハイブリッド 1 : 5 0 L での試験		
第 1 の世代のビール		
株の名称	ラガー酵母 1	ハイブリッド 1
世代	1	1
麦汁のプラート(出発値)	17.76	17.76
発酵温度	18	18
ピッチング率	10	10
ビール A E	3.21	2.71

10

第 2 の世代のビール		
株の名称	ラガー酵母 1	ハイブリッド 1
世代	2	2
麦汁のプラート(出発値)	17.91	17.91
発酵温度	18	18
ピッチング率	10	10
ビール A E	3.46	2.86

20

## 【 0 4 3 2 】

ハイブリッド酵母 1 では、ラガー酵母 1 と比較しての 0.5 % である、0.5 % A E が改善された。

## 【 0 4 3 3 】

同様の試験を、ラガー酵母 2、ハイブリッド酵母 4、ハイブリッド酵母 7、ハイブリッド酵母 8、及び、*S. diastaticus* を用いて行なった。接種をして 7 日後の A E と R D F が、表 5 b に示されている。実験 2 において上で記載した実験設定で、示した酵母細胞を試験した。

30

## 【 0 4 3 4 】

## 【表 5 b】

表 5 b

18℃ 第2の世代 酵母	ピッチング 率 100万 個/ml	7日後のAE、 プラート%	RDF、 7日目
ラガー酵母2	15.0	3.01	64.4
ラガー酵母2	15.0	2.93	66.3
ハイブリッド酵母 4	15.0	2.49	69.0
ハイブリッド酵母	15.0	2.53	68.8
ハイブリッド酵母 7	15.0	2.35	69.0
ハイブリッド酵母 7	15.0	2.39	69.6
ハイブリッド酵母 8	12.4	1.1	75.9
ハイブリッド酵母	12.4	1.12	75.1
<i>S. diastaticus</i>	14.7	1.67	73.1
<i>S. dsastaticus</i>	15.0	1.66	73.0
	ラガー酵母 2	ハイブリッド酵 母4	ハイブリ ッド酵 母7
AE平均、7日	2.97	2.51	2.37
ラガー酵母2に対する AE増大		0.46	0.6
RDF平均、7日目	65.35	68.9	69.3
ラガー酵母2に対する RDF増大		3.55	3.95

RDFは%で示されている。

## 【0435】

ラガー酵母2、ハイブリッド酵母4及び7について、発酵速度も決定した。実験設定は、発酵の過程で幾つかの時点で外観エキス濃度が決定され、そして、18℃でインキュベーションした以外は、実験2で本明細書に記載した通りであった。図16は、麦汁を投入後の経時的なプラート度で表した外観エキス濃度を示す。使用した麦汁は、15度のプラートの出発糖含量であった。そこに示したように、ハイブリッド酵母4及び7の一次発酵の時間は、約3日間であるのに対して、ラガー酵母2の一次発酵の時間は、約4日間である。

## 【0436】

## 実施例4

出発麦汁及び実施例1で記載の製造されたビールでのアミノ酸含量を、蛍光検出器を備えたHPLCで決定した。

## 【0437】

表6aは、最終ビールでのアミノ酸濃度を示す。

## 【0438】

## 【表6a】

表6a

		ラ ガ ー 酵 母 1	エ ー ル 酵 母 1	ハイブリッ ド酵母1	ハイブリッド酵母1 で醸造した最終ビール における、ラガー酵 母1と比較した、アミ ノ酸の減少率(%)
アスパラギン酸 W	mg/L	32	51	3	90%
グルタミン酸 W	mg/L	44	47	14	68%
セリン W	mg/L	11	23	8	27%
ヒスチジン W	mg/L	42	46	25	40%
グリシン W	mg/L	49	57	35	28%
トレオニン W	mg/L	12	16	5	58%
アルギニン W	mg/L	152	136	86	43%
アラニン W	mg/L	147	145	80	45%
チロシン W	mg/L	129	140	118	8%
メチオニン W	mg/L	26	28	10	61%
バリン W	mg/L	136	159	121	11%
フェニアルアラニン	mg/L	134	166	117	12%
イソロイシン W	mg/L	59	71	33	44%
ロイシン W	mg/L	113	173	78	31%
リジン W	mg/L	29	25	1	97%

## 【0439】

ハイブリッド酵母1は、最終ビールに残存しているアミノ酸がかなり少なく、このことは、ビールの熟成及びビールの安定性の点において有利である。ハイブリッド1を用いて発酵したビールは、それらのアミノ酸から形成されるストレッカーアルデヒドを、より少ない量生成する。

## 【0440】

ストレッカーアルデヒドは、ビールの「熟成」風味の重要な成分であり、その一部は、びん詰めビールそれ自体のアミノ酸に起因している。知覚閾値が小さいストレッカーアルデヒドの形成に関与することが示されているアミノ酸として、バリン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、及び、フェニアルアラニンがある(表2)。ストレッカーアルデヒドの形成は、その濃度が大きくなると、「熟成した風味」の知覚が容易になるので、重要な役割を果たす。ハイブリッド酵母1を用いて発酵したビールは、よって、アミノ酸の旺盛な消費が故に、熟成した風味はより少ない。

## 【0441】

10

20

30

40

## 【表 2 - 2】

表 2. 異臭ストレッカーアルデヒドの形成における前駆体としての役割を果たすアミノ酸。

アミノ酸	ストレッカーアルデヒド
メチオニン	メチオナール
ロイシン	3-メチルブタナール
バリン	2-メチルプロパナール
イソロイシン	2-メチルブタナール
フェニアルアラニン	フェニルアセトアルデヒド、

10

## 【0442】

ラガー酵母 2、ハイブリッド酵母 4、または、ハイブリッド酵母 7 を用いて別の発酵を行ない、発酵の 7 日目に、「グリーンビール」でのアミノ酸濃度を決定した。その結果を、表 6 b に示す。実験設定は、実施例 2 での記載のとおりであり、アミノ酸分析を、実施例 9 の記載にのとおりに行った。ハイブリッド、特に、ハイブリッド酵母 7 は、ラガー酵母 2 よりも、「グリーンビール」に残存しているアミノ酸が少なく、このことは、熟成化合物の形成のための前駆体がビールにより少ないことを意味している。

20

## 【0443】

【表 6 b】

表 6 b

アミノ酸		ラガー酵母 2	ハイブリッド酵母 4	ハイブリッド酵母 4 で醸造した最終ビールにおける、ラガー酵母 2 と比較した、アミノ	ハイブリッド酵母 7	ハイブリッド酵母 7 で醸造した最終ビールにおける、ラガー酵母 2 と比較した、アミノ
His	mg / L	40	25.5	36.25%	11.5	71.25%
Asn	mg / L	8.5	5.5	35.3%	3	64.7%
Ser	mg / L	3	3.5	na	0	100%
Gln	mg / L	32	3	90.6%	0	100%
Arg	mg / L	52	24	53.85%	6.5	87.5%
Gly	mg / L	50.5	49.5	2.0%	26.5	47.5%
Asp	mg / L	17.5	6.5	62.9%	2	88.6%
Glu	mg / L	75.5	20	73.5%	8.5	88.7%
Thr	mg / L	0	2	na	0	na
Ala	mg / L	175.5	131	25.3%	36	79.5
Pro	mg / L	606.5	656.5	na	599.5	1.15%
Cys	mg / L	0	0	na	0	na
Lys	mg / L	2	1	na	1	na
Tyr	mg / L	110	117	na	91	17.3%
Met	mg / L	7.5	5.5	26.7%	2	73.3%
Val	mg / L	113.5	117	na	66.5	43.2%
Ile	mg / L	44	31.5	28.4%	6	86.4%
Leu	mg / L	74.5	62	16.8%	18.5	75.2%
Phe	mg / L	97	99	na	58	40.2%
Trp	mg / L	51.5	51	1%	40.5	21.3%

(na) 該当なし;

【 0 4 4 4 】

参照文献

Baert, J. J., J. De Clippeleer, P. S. Hughes, L. De Cooman and G. Aerts (2012). "On the Origin of Free and Bound Staling Aldehydes in Beer." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(46): 11449-11472.

Clapperton, J. F. and I. C. MacWilliam (1971). "Fermentation of minor wort carbohydrates by brewing yeasts." *Journal of the Institute of Brewing* 77(6): 519-522.

Deng, X., M. Petitjean, M. A. Teste, W. Kooli, S. Trainer, J. M. Francois and J. L. Parrou (2014). "Similarities and differences in the biochemical and enzymological properties of the four isomaltases from Sac

10

20

30

40

50

charomyces.cerevisiae." FEBS Open Bio 4: 200-212.

Teste, M. A., J. M. Francois and J. L. Parrou (2010). "Characterization of a new multi gene family encoding isomaltases in the yeast Saccharomyces.cerevisiae, the IMA family." J Biol Chem 285(35): 26815-26824.

【0445】

実施例5

50Lのビールを、実施例3での記載にしたがって、種類の異なる2つの麦芽から調製された従来の麦芽をベースとする麦汁(16度のプラート)を接種することによって調製した。

【0446】

従来の麦芽をベースとする麦汁に対して、1,000万個の生細胞/mlの酵母を接種し、次いで、16 で、ジアセチルが、実施例1に記載のビールでの閾値を下回るまで発酵を行った。

【0447】

他の麦芽が、1,500万個の生細胞/mlの酵母と共に接種され、次いで、ラガー酵母1については16 で、そして、ハイブリッド酵母1については18 で、ジアセチルが、実施例1に記載のビールでの閾値を下回るまで発酵を行った。

【0448】

2つの異なる酵母株及び2つの異なる麦芽から作った2つの異なる麦汁が使用された。2つの株を並行してに比較するために、同じ麦汁と発酵条件を使用した。

ラガー酵母1

ハイブリッド酵母1

【0449】

ビールに含まれるイソマルトース及びパノースのレベルを、HPLCによって決定した。それらの結果を表7に示す。

【0450】

【表7】

表7

酵 母	麦 芽	イソマルトース (mg / L)	パノース (mg / L)
ラガー酵母1	麦芽1	390	300
ハイブリッド酵母1	麦芽1	15	160
ラガー酵母1	麦芽2	240	240
ハイブリッド酵母1	麦芽2	15	60

【0451】

パノース及びイソマルトースの出発濃度は、麦汁に依存するが、文献によれば、0.5 ~ 1 g/Lの範囲のイソマルトース及び0.4 ~ 0.8 g/Lの範囲のパノースとされている(Clapperton et al. 1971)。よって、ハイブリッド酵母1は、60% ~ 93%の範囲のパノースを資化するものと考えられる。

【0452】

パノース及びイソマルトースの資化の定量データを、2 g/Lのパノースまたは2 g/Lのイソマルトースを唯一の炭素源として含む所定の培地での異なる酵母の成長を測定することによって取得した。

【0453】

10

20

30

40

50

凍結ストックからの酵母細胞を、YPDプレート(1%酵母エキス、2%ペプトン、2%グルコース及び2%寒天)に画線し、そして、成長している細胞を、液体YPD(1%酵母エキス、2%ペプトン、2%グルコース)に接種した。

【0454】

3  $\mu$ lの終夜液体YPD培養物を、アミノ酸を含まずに、硫酸アンモニウムを含み、フタル酸水素カリウムでpH5.5にまで緩衝され(Hahn-Hagerdal B, et al. 2005)、2 g/Lのパノースまたは2 g/Lのイソマルトースを唯一の炭素源として含む、YNB(6.7 g/L)の100  $\mu$ l培養物へ接種した。細胞の成長は、攪拌を継続しながら、600 nmでの光学密度を測定し、Bioscreen C MBR(Oy Growth Curves Ab Ltd、フィンランド)を用いて、20 の温度でインキュベーションすることによって、観察が行われた。改善された発酵特性を示したラガー及びエールの選択されたハイブリッド酵母株は、パノース(図1A)及びイソマルトース(図2)を資化する能力を獲得した。この糖資化の改善は、図1A及び図2Aでの2つのハイブリッドで例示される。

10

【0455】

同様の実験を、2 g/Lのパノースを唯一の炭素源として含む所定の培地を用いて、エール酵母1、ラガー酵母2、及び、ハイブリッド酵母7、ならびに、*S. diastaticus*及びハイブリッド酵母8について行われた。それらの結果は、図1B及び図1Cにそれぞれ示されており、生物学的再現性を表している。そこから見てとれるように、ラガー酵母1、ラガー酵母2、*S. diastaticus*のいずれもが、パノースを唯一の炭素源として資化することはできない。

20

【0456】

同様の実験を、2 g/Lのイソマルトースを唯一の炭素源として含む所定の培地を用いて、エール酵母1、ラガー酵母2、及びハイブリッド酵母7についても行なった。それらの結果は、図2Bに示されており、生物学的再現性を表している。そこから見てとれるように、ラガー酵母1、ラガー酵母2、*S. diastaticus*のいずれもが、イソマルトースを唯一の炭素源として資化することはできない。

【0457】

参照文献

Clapperton, J. F. and I. C. MacWilliam (1971). "Fermentation of minor wort carbohydrates by brewing yeasts." *Journal of the Institute of Brewing* 77,6: 519-522.

30

Hahn-Hagerdal B, Karhumaa K, Larsson CU, Gorwa-Grauslund M, Gorgens J, van Zyl WH. (2005). Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use. *Microbial Cell Factories* 10: 4-31.

【0458】

実施例6

凍結ストックからの酵母細胞を、YPDプレートに画線した。それらは、3 mlの液体YPDに接種するために用いられ、22 で、15 mlの試験管内で、攪拌しながら、終夜、成長させた。3 mlの成長培養物を遠心分離し、上清は廃棄し、細胞を水に溶解した。当該試験管を再び遠心分離し、上清は廃棄し、3 mlの水に溶解した。

40

【0459】

光学密度(OD620 nm)を測定し、Biolog Inc. technology(Hayward CA、米国)から市販されている96ウェルプレートのウェルのすべての株及び溶液について、OD=0.2で開始するように調整が行われた。Biologプレートのすべての溶液を、*S. cerevisiae*及び他の酵母のための手順のために

50

特定した。96 ウェルプレートを、22 で、4.5 日間、インキュベーションした。

【0460】

B i o l o g システムは、単一の実験で、何千もの細胞表現型のレベルを定量的にアッセイすることを可能とする。アッセイの各ウェルは、一個体の表現型を試験するために設計されている。B i o l o g は、細胞呼吸を分析するための汎用レポーターシステムとして、酸化還元化学を使用する。それは還元されたテトラゾリウム染料有し、当該細胞が、ウェル内に存在する化合物を呼吸できる場合、あるいは、その特定のウェルにある当該化合物の存在下で呼吸できる場合、に発色する。

【0461】

3つの酵母株、すなわち2つの親株(ラガー酵母1及びエール酵母1)、及びそれらから得たハイブリッド(ハイブリッド酵母1)を比較した。それら酵母株の詳細は、実施例1に記載されている。幾つかの条件下で、これら3つの株は、表現型において相違が認められた。ハイブリッド株1は、新しい表現型の特性、例えば、数種類のジペプチド類と幾つかのトリペプチド類を資化する能力を獲得することができた(表8aを参照されたい)。

【0462】

【表8a】

表8a

ペプチド類	ラガー酵母1	エール酵母1	ハイブリッド酵母1
MET-TYR	—	—	+
LEU-TYR	—	—	+
VAL-MET	—	—	+
PHE-TYR	—	—	+
ILE-LEU	—	—	+
ILE-ASN	—	—	+
GLY-GLY-GLY	—	—	+

+ 表示したペプチド類を唯一の窒素源として含む培地での成長を示す。

- 表示したペプチド類を唯一の窒素源として含む培地での成長がないことを示す。

【0463】

同様の実験において、6つの酵母株、すなわち、ラガー酵母1、ラガー酵母2、エール酵母1、ハイブリッド酵母1、ハイブリッド酵母4、及びハイブリッド酵母7の酵母株を比較した。それらの結果を、以下の表8bに示す。そこから見てとれるように、ハイブリッドは、親株では見られなかった新しい特性を有している。ラガー酵母1は、先の実験では全く成長が認められなかったが、この実験では、I l e - A s n にて若干の成長を示した。しかしながら、ラガー酵母1の成長は、ハイブリッド酵母1の成長と比べて、有意に低いものであった。

【0464】

## 【表 8 b】

表 8 b

ペプチド類	ラガー酵母 1	ラガー酵母 2	エール酵母 1	ハイブリッド酵母 1	ハイブリッド酵母 4	ハイブリッド酵母 7
Gly-Arg	-	-	-	-/+	+	+
Ile-Asn	-/+	-	-	+	+	+
Lys-Tyr	-/+	-	-	-/+	+	+
Met-Lys	-/+	-	-	-/+	+	+
Val-Ala	-/+	-	-	+	+	+
Val-Asn	-	-	-	-/+	+	+
Val-Gly	-	-	-	-/+	+	+
Val-GIn	-	-	-	+	+	+
Val-Met	-	-	-	+	+	-/+
Val-Ser	-/+	-	-	+	+	+

10

ハイブリッド酵母 4 及び 7 は、Met - Tyr、Leu - Tyr、Phe - Tyr、Ile - Leu または Gly - Gly - Gly を唯一の窒素源として有意に成長することは

20

なかった。

## 【0465】

ハイブリッド酵母 1 も、ラガー酵母 1 では認められない幾つかの表現型、例えば、式 Ala - Xaa (式中、Xaa は任意のアミノ酸である) の式で表される数種類のジペプチド類で成長する特性を獲得した。この能力は、ハイブリッド酵母が同様に資化することができるアラントインを資化する能力としばしば関連付けられている(表 9 a を参照されたい)。

## 【0466】

## 【表 9 a】

表 9 a

ペプチド類	ラガー酵母 1	エール酵母 1	ハイブリッド酵母 1
Ala-Glu	-	+	+
Ala-Gly	-	+	+
Ala-His	-/+	+	+
Ala-Thr	-/+	+	+
アラントイン	-	+	+

30

- + 表示したペプチド類を唯一の窒素源として含む培地での成長を示す。
- 表示したペプチド類を唯一の窒素源として含む培地での成長がないことを示す。
- /+ 増殖遅延または遅滞期での成長を意味する。

40

## 【0467】

また、表 9 b に示すように、ハイブリッド酵母 4 及び 7 は、Ala - Xaa ジペプチド類を唯一の窒素源として資化することができる。

## 【0468】

## 【表 9 b】

表 9 b

ペプチド類	ラガー酵母 2	ハイブリッド酵母 4	ハイブリッド酵母 7
Ala-Glu	—	—/+	+
Ala-Gly	—	—/+	+
Ala-Thr	—/+	+	+

## 【 0 4 6 9 】

ジペプチド類及びトリペプチド類は、FANの一部である。FANは、遊離アミノ窒素であり、麦汁またはビールの窒素含量の評価基準である。FANは、麦汁に含まれるアミノ酸、アンモニウムイオン、及び小ペプチド類から形成され、酵母にとって望ましい発酵性能を確保する(Lekkas C, et al. 2009)。多くの異なるジペプチドの組み合わせが、麦汁に認められ得る。

10

## 【 0 4 7 0 】

ハイブリッド酵母 1 は、麦汁に含まれ得る数種類の異なる試験をしたジペプチド類/トリペプチド類を資化することができ、及び、それ故に、細胞バイオマスの前駆体、炭素源、または、風味の前駆体となり得るFAN由来のより広範囲の基質を有する。

## 【 0 4 7 1 】

## 参照文献

Lekkas C, Hill AE, Taidi B, Hodgson J, Stewart GG (2009). The role of small wort peptides in brewing fermentations. J. Inst. Brew. 115 (2), 134-139.

20

## 【 0 4 7 2 】

## 実施例 7

メリビオース資化性の定性データは、96ウェルプレートで成長した酵母のYPD液体培養物を、50 µg/mlのX-アルファゲル(Clontech, Mountain View, 米国)を含むYPGalactoseプレート(1%酵母エキス、2%ペプトン、2%グルコース及び2%寒天)へとレプリカプレーティングし、それらプレートを、5日間、22°Cで、インキュベーションすることによって行われた。X-アルファゲルは、メリビオースの発色類似体であり、酵母がメリビオースを資化できる場合には、酵母コロニーは青色となり、また、酵母がメリビオースを資化できない場合には、酵母コロニーは白色となる。

30

## 【 0 4 7 3 】

結果は(表9)、試験をしたすべてのラガー酵母が、メリビオース資化性が陽性(青のコロニー色)であり、試験をしたすべてのエール酵母は、メリビオース資化性が陰性(白のコロニー色)であり、ハイブリッドは、遺伝で受け継いだものに応じて、メリビオース資化性が陽性または陰性(青または白のコロニー色)であったことを示す。

## 【 0 4 7 4 】

40

## 【表 9】

表 9

酵母	酵母コロニーの色
ラガー酵母 1、2、3 及び 4	青色
エール酵母 1、2、3、4 及び 5	白色
ハイブリッド酵母 1	白色
ハイブリッド酵母 4	青色
ハイブリッド酵母 5	青色
ハイブリッド酵母 6	青色

10

## 【0475】

メリビオースの定量データは、2 g/L のメリビオースを唯一の炭素源として含む所定の培地での酵母の成長を測定することによって行われた。

## 【0476】

凍結ストックからの酵母細胞を、YPD プレートに画線し、そして、成長している細胞を、液体 YPD に接種した。

## 【0477】

3 µl の終夜液体 YPD 培養物を、アミノ酸を含まずに、硫酸アンモニウムを含み、フタル酸水素カリウムで pH 5.5 にまで緩衝され (Hahn-Hagerdal B. et al. 2005)、2 g/L のメリビオースを唯一の炭素源として含む、YNB (6.7 g/L) の 100 µl 培養物へ接種した。細胞の成長は、攪拌を継続しながら、600 nm での光学密度を測定し、Bioscreen C MBR (Oy Growth Curves Ab Ltd、フィンランド) を用いて、20 の温度でインキュベーションすることによって、観察が行われた。ラガー及びエールのハイブリッドは、メリビオースを資化する能力を獲得したが、すべてのハイブリッドについて言えるわけではない(このことは、図 3 の 3 つのハイブリッドを用いて例示される)。

20

## 【0478】

参考文献:

Hahn-Hagerdal B, Karhumaa K, Larsson CU, Gorwa-Grauslund M, Gorgens J, van Zyl WH. (2005). Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use. *Microbial Cell Factories* 10: 4-31.

30

## 【0479】

実施例 8

改善された二糖及び三糖の資化

50 L のビールを、実施例 3 での特定されるように、麦芽ベースの麦汁を、1,500 万個の生細胞/ml で接種し、次いで、ジアセチルが、30 ppb を下回るまで発酵を行うことによって調製された。麦芽は、従来の麦芽製造用の大麦、または、ヌル LOX 大麦から調製した。

40

## 【0480】

2 つの異なる酵母株、すなわちラガー酵母 1 及びハイブリッド酵母 1 を使用した。ラガー酵母 1 を用いた発酵が 18 で行われたのに対して、ハイブリッド酵母 1 を用いた発酵が 16 で行われたこと以外は、2 つの株を並行して比較するために、同じ麦汁と発酵条件を使用した。同じ株を用いて調製された 3 つの別々の醸造物が造られ、そして、異なる糖類のレベルを、NMR によって決定した。代表的な結果が図 4 に示されており、びん詰めされた最終ビールにおけるものとは異なる特定の糖類のレベルに関する。

50

## 【0481】

NMRの結果は、ハイブリッド酵母1が、イソマルトース、パノース、ニゲロース、コージビオース、及び、その他の未同定の炭水化物の改善された資化を有していたことを示す(図4)。しかしながら、ラガー酵母1は、これらの糖類を資化することはできない。

## 【0482】

二糖のイソマルトースやマルツロース、及び三糖類のパノースやマルトトリオースは、ビール醸造に使用される麦汁培地において副次的な糖類である(Clapper and MacWilliam 1971)。我々の結果は、ラガー酵母1で醸造したビールに認められたニゲロース、コージビオース、及び、トレハロースなどのその他の二糖類も存在していることを示す(図4)。低い量で存在するこれらの糖類の糖資化の改善は、ハイブリッド酵母1による良好な糖全般の資化及びエタノール収率産生の改善の主要因となりえる。

10

## 【0483】

## 実施例9

第1の世代に由来する50Lのビールを、すべての麦芽から調製された従来の麦芽ベースの麦汁(13.6度のプラート)に対して、接種物として1,500万個の酵母生細胞/mlを接種し、次いで、18で、5日間、そして、14で、2日間、発酵を行うことによって調製した。細胞接種物は、前の増殖タンクから取得された。麦汁を調製するために使用された麦芽は、デンマークのDMGから購入した。6日目に、「グリーンビール」の試料に相当する発酵した麦汁の試料を取得し、遠心分離し、分析に供されるまで、上清を-20で凍結した(表10)。遊離アミノ酸の濃度を、実質的に製造業者の指示書にしたがって、WatersのAccQ-Tag Ultra誘導体化キットを使用して、Photo Diode Array検出を備えたUPLCによって決定した。予め混合された溶離剤A及びBを使用して、Waters AccQ-Tag Ultraアミノ酸分析用カラムで、製造業者(Waters)の指示書にしたがって、分離を行なった。発酵を行うために使用した当初の麦汁の試料も、すでに発酵した試料との比較に供した。すべてのグリーンビール試料と当初の麦汁の試料との間でアミノ酸濃度の比較が行われた(表10)。

20

## 【0484】

ハイブリッド酵母で発酵したグリーンビールでの残存アミノ酸のレベルは、ラガー酵母1で発酵したグリーンビールと比較して、遥かに低く、このことは、ビールの熟成とビールの安定性に関して有利である。ハイブリッド酵母で造られたビールにおいて、貯蔵している間に、より少ないストレッカーアルデヒドが、それらのアミノ酸から形成されるものと考えられる。ストレッカーアルデヒドは、ビールの「熟成した」風味の重要な成分であり、その一部は、びん詰めされたビールそれ自体のアミノ酸から発生するものである。知覚閾値の低いストレッカーアルデヒドの形成への関与が示されているアミノ酸として、バリン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、及びフェニルアラニンがある(Baert, De Clippeler et al. 2012)。ストレッカーアルデヒドの形成は、その濃度が増大することで、「熟成風味」の知覚度が高まるので、重要な役割を果たす。ハイブリッド酵母1及び4を用いて醸造したビールは、アミノ酸の旺盛な消費に起因して、熟成した風味はより少なく、この効果は、高比重発酵または高濃度のFAN供給源を含む麦汁麦芽において、さらに顕著になるであろう。

30

40

## 【0485】

ハイブリッド酵母1及び4によって、アミノ酸プロリンも資化されたが、グリーンビールでのラガー酵母では資化されなかった。アミノ酸プロリンは、取り込みが最も困難なアミノ酸であるにもかかわらず、麦汁での主要なアミノ酸構成成分であり、したがって改善されたプロリン資化性を有するハイブリッド酵母は、ラガー酵母が資化できない、この窒素源を資化する追加の能力を有することとなる。

## 【0486】

【表 10 - 1】

表 10. 1日のグリーンビールのアミノ酸分析(mg/L)

	His	Asn	Ser	Gln	Arg	Gly	Asp
最初の麦汁	44	78	65	21	93	27	56
グリーンビール ハイブリッド酵母 1 総レベル (麦汁内でのレベ ルの%)	4 (9%)	2 (3%)	0 (0%)	15 (71%)	0 (0%)	6 (22%)	0 (0%)
グリーンビール ラガー酵母 1 総レベル (麦汁内でのレベ ルの%)	18 (41%)	3 (4%)	2 (3%)	20 (95%)	11 (12%)	20 (74%)	3 (5%)
グリーンビール ハイブリッド酵母 4 総レベル (麦汁内でのレベ ルの%)	10 (23%)	2 (3%)	0 (0%)	17 (81%)	3 (3%)	11 (41%)	0 (0%)
	Glu	Thr	Ala	Pro	Cys	Lys	Tyr
最初の麦汁	84	50	92	270	0	74	78
グリーンビール ハイブリッド酵母 1 総レベル (麦汁内でのレベ ルの%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (4%)	227 (84%)	0 (0%)	2 (3%)	0 (0%)
グリーンビール ラガー酵母 1 総レベル (麦汁内でのレベ ルの%)	21 (25%)	0 (0%)	68 (74%)	270 (100%)	0 (0%)	4 (5%)	22 (28%)

10

20

30

【表 10 - 2】

グリーンビール ハイブリッド酵母 4 総レベル (麦汁内でのレベ ルの%)	2 (2%)	0 (0%)	14 (15%)	250 (93%)	13 -	2 (3%)	0 (0%)
	Met	Val	Ile	Leu	Phe	Trp	累計
最初の麦汁	24	88	47	112	98	48	1448
グリーンビール ハイブリッド酵母 1 総レベル (麦汁内でのレベ ルの%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (6%)	263 (18%)
グリーンビール ラガー酵母1 総レベル (麦汁内でのレベ ルの%)	0 (0%)	15 (17%)	2 (4%)	2 (2%)	10 (10%)	28 (58%)	518 (36%)
グリーンビール ハイブリッド酵母 4 総レベル (麦汁内でのレベ ルの%)	0 (0%)	2 (2%)	0 (0%)	2 (2%)	0 (0%)	18 (38%)	346 (24%)

10

20

## 【0487】

Baert, J. J., J. De Clippeleer, P. S. Hughes, L. De Cooman and G. Aerts (2012). "On the Origin of Free and Bound Staling Aldehydes in Beer." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(46): 11449-11472.

30

## 【0488】

## 実施例 10

実施例 1 に記載のハイブリッド酵母 1 のゲノム配列を、以下のようにして決定した。

## 【0489】

ゲノム DNA の抽出、及び、全ゲノム配列決定、及び、ゲノムの組み立ては、LGC Genomics GmbH (ベルリン、ドイツ) によって行われた。追加の個々の遺伝子の配列決定のために、それらの株のゲノム DNA 抽出を、MasterPure (商標) 酵母 DNA 精製キット (Epicentre, Illumina Denmark ApS, コペンハーゲン、デンマーク) によって行なった。ゲノム DNA からの PCR 増幅を、ハイフィディリティ PCR 用酵素ミックス、または、Dream Taq ポリメラーゼを用いて、低い数の PCR サイクルで行い、それら双方は共に、Thermo Fisher Scientific Baltics UAB (Vilnius, リトアニア) のものである。PCR 産物は、NucleoSpin PCR Clean-up (Macherey-Nagel, Duren, ドイツ) によって精製した。PCR 産物のクローニングを、配列決定用 TOPO (登録商標) TA Cloning (登録商標) キットを用いて

40

50

実施し、 $\lambda$ -X-ガラクトースが加えられたLBアンピシリンプレートで選択された。プラスミドを、Thermo Fisher Scientific Baltics UAB (Vilnius, リトアニア)のGeneJET Plasmid Miniprepキットで精製した。プラスミドの配列決定は、Eurofins Genomics (Edersberg, ドイツ)で行われた。

**【0490】**

ハイブリッド酵母1、ラガー酵母1、及び、エール酵母1を、組み立てたゲノム配列、及び/または、PCR産物の配列のいずれかを用いて、様々な選択した遺伝子について分析した。タンパク質配列を、遺伝コードを用いて、遺伝子配列、または、PCR産物の配列から推定した。

10

**【0491】**

ハイブリッド酵母4、ハイブリッド酵母7、及びラガー酵母2を、PCR産物の配列を用いて、様々な選択した遺伝子について分析した。ハイフィディリティPCR用酵素を用いたPCR増幅によって配列が取得され、次いで、適用可能であれば、各々のPCRクローンのクローニング及び配列決定が行われた。ハイブリッド酵母4及びハイブリッド酵母7の対立遺伝子をPCR、クローニング、及び配列決定によって同定した。ラガー酵母2の対立遺伝子は、PCR及び配列決定(IMA1)によって同定されるか、あるいは、ゲノム配列(AGT1)から組み立てられた。タンパク質配列は、遺伝コードを用いて、PCR産物の配列から推定された。

**【0492】**

20

本明細書に記載の長いIMA1対立遺伝子は、3つのアミノ酸の組み合わせ、すなわち第165位のI(イソロイシン)またはT(トレオニン)、第287位のR(アルギニン)またはK(リジン)、及び第336位のY(チロシン)またはF(フェニルアラニン)の組み合わせによって定義される。エール1LONG\_IMA1対立遺伝子についてのアミノ酸シグネチャーモチーフは、I-R-F及びI-K-Fである。ラガー酵母1及びラガー酵母2は、T-R-Yモチーフを有している。ハイブリッド酵母1は、I-K-F対立遺伝子及びT-R-Y対立遺伝子を含む。ハイブリッド酵母4は、I-R-Fモチーフを含む。ハイブリッド酵母4は、I-R-Yのシグネチャーモチーフを有する新規のハイブリッド対立遺伝子も含む。ハイブリッド酵母7は、I-K-F対立遺伝子及びT-R-Y対立遺伝子を含む。ハイブリッド酵母7は、ハイブリッド酵母4によってコードされるタンパク質と同一であるI-R-Yモチーフを有する新規のハイブリッド対立遺伝子も含む。

30

**【0493】**

表11aには、ラガー酵母1、エール酵母1、及びハイブリッド酵母1でのジペプチド資化性に関係した様々な遺伝子の状態をまとめてある。

**【0494】**

【表 1 1 a】

表 1 1 a

遺伝子	機 能	ラガー酵母 1	エール酵母 1	ハイブリッド酵母 1
DAL5*	N末端にA1aを有するジペプチド類の輸送	非Sc	Sc	配列番号6をコードするSc対立遺伝子
PTR2**	ペプチド輸送体(ジ-トリペプチド類)	Sc; 非Sc	Sc	配列番号7及び配列番号8をコードする2つのSc対立遺伝子 配列番号9をコードする非Sc対立遺伝子
UBR1***	E3 ユビキチンリガーゼ(N-レコグニン)ペプチド分解経路	Sc; 非Sc	Sc(早期終止コドン -- 一端が欠失されているタンパク質)	配列番号10を含むUBR1をコードするSc対立遺伝子; 配列番号11をコードする非Sc対立遺伝子

10

20

\* DAL5は、親のエール酵母1からハイブリッド酵母1が受け継ぐ遺伝子の一例である。DAL5に関連するScという用語は、配列番号6の*S. cerevisiae* DAL5タンパク質を指す。DAL5タンパク質配列のアライメントを図5に示す。

30

\*\* PTR2は、ハイブリッド酵母1が増大したコピー数を有している一例である。よって、ハイブリッド酵母1は、ラガー酵母1から非Sc対立遺伝子を、そして、その双方の親株から少なくとも2つのSc対立遺伝子を受け継いでいる。ハイブリッド酵母1のPTR2対立遺伝子の断片だけを調べた。

\*\*\* UBR1は、ハイブリッド酵母1において活性相補を有する遺伝子の一例である。エール酵母1は、一端が欠失されているタンパク質(1951個のアミノ酸の代わりに900個のアミノ酸)をコードし、このことは、Cup9p分解活性の要因であり、対応してPTR2発現の抑制の要因であるドメインの欠落をもたらし、ハイブリッド酵母1は、ラガー酵母1由来のSc対立遺伝子と非Sc対立遺伝子の双方を受け継いでおり、よって、Cup9p分解に向かうUbr1p活性を相補し、対応してさらにPTR2の能力が活性化される。エール酵母1、ハイブリッド酵母1、及び、ラガー酵母1に由来するPTR2のSc対立遺伝子のアライメントが図6に示されており、また、ラガー酵母1、及びハイブリッド酵母1の非Sc対立遺伝子のアライメントはが図7に示されている。

40

## 【0495】

ハイブリッド酵母1及びハイブリッド酵母7のゲノム配列を、さらに研究し、その結果が、表11bに示されている。これらの分析は、DDBJ/EMBL/GenBank受託番号LOQJ00000000、バージョンLOQJ01000000、及び、DDBJ/EMBL/GenBank受託番号LOQK00000000、バージョンLOQK01000000TPTR2、それぞれ、で入手可能なゲノム配列に基づくものである。

50

## 【0496】

対立遺伝子変異のPTR2分析を、当該ゲノム配列(上記の受託番号を参照されたい)に基づいて行なった。ハイブリッド酵母1及びハイブリッド酵母7の双方は、非Sc\_PTR2コピーを保持していた。表11aにおいて、ハイブリッド酵母1の断片化したSc\_PTR2コピーが示されている。表11bは、当該ゲノム配列でのハイブリッド酵母1のSc\_PTR2の無傷のコピーを示す。表11aで示すように、ハイブリッド酵母1が、PTR2をコードする3つの対立遺伝子を含むことは可能である。同様に、ハイブリッド酵母7も、Sc\_PTR2を有している。双方のハイブリッドにおいて、Sc\_PTR2タンパク質配列は、Sc\_PTR2エール酵母1とSc\_PTR2ラガー酵母1及び2コピーとの間でのハイブリダイゼーションを示す。

10

## 【0497】

対立遺伝子変異のDAL5分析を、当該ゲノム配列(上記の受託番号を参照されたい)に基づいて行なった。ハイブリッド酵母1及びハイブリッド酵母7は、エール酵母1由来のSc\_DAL5を保持していた。同様に、ハイブリッド酵母7は、非Sc\_DAL5を保持していた。

## 【0498】

対立遺伝子変異のUBR1分析を、当該ゲノム配列(上記の受託番号を参照されたい)に基づいて行なった。双方のラガー親酵母は、一端が異なって欠失されているSc\_PTR2コピーを有している。以前に行ったラガー1ゲノムデータ検索では、断片化した配列しか得られず、早期終止コドンを決めるには至らなかった。双方のハイブリッド酵母は、ラガーの親に由来する非Sc\_PTR2UBR1を保持していた。双方のハイブリッドで検出されたSc\_PTR2コピーは、エール1の親から受け継がれた。

20

## 【0499】

## 【表 1 1 b】

表 1 1 b

	ラガー酵母 2 (ラガー 2)	エール酵母 1 (エール 1)	ハイブリッド酵母 1 (ハイブリッド 1)	ハイブリッド酵母 7 (ハイブリッド 7)
P T R 2	S c __コピー 非 S c __コピー	ラガーの S c __コピーと 6 つのアミノ酸差異を有する S c __コピー	配列番号 4 3 をコードする 1 つの S c __様ハイブリッド対立遺伝子； 配列番号 4 4 をコードする 1 つの非 S c 対立遺伝子	配列番号 3 7 を含むタンパク質をコードする 1 つの S c __様ハイブリッド対立遺伝子； 配列番号 3 8 をコードする 1 つの非 S c 対立遺伝子
D A L 5	非 S c __コピー	S c __コピー	1 つの S c __コピー (表 1 1 a を参照されたい)	配列番号 3 9 をコードする 1 つの S c 対立遺伝子； 配列番号 4 0 をコードする 1 つの非 S c 対立遺伝子
U B R 1	S c __コピー 一端が欠失されている、1 5 4 4 ； 非 S c __コピー	S c __コピー 一端が欠失されている、9 0 0 アミノ酸；	配列番号 4 5 を含むタンパク質をコードする 1 つの S c 対立遺伝子 1 つの非 S c 対立遺伝子 (表 1 1 a を参照されたい)	配列番号 4 1 を含むタンパク質をコードするエール 1 と同じの 1 つの S c 対立遺伝子； 配列番号 4 2 をコードする 1 つの非 S c 対立遺伝子

10

20

30

## 【 0 5 0 0 】

表 1 2 a には、ラガー酵母 1、エール酵母 1、及び、ハイブリッド酵母 1 での糖資化に関係した様々な遺伝子の状態をまとめてある。

## 【 0 5 0 1 】

【表 1 2 a】

	ラガー1	エール1	ハイブリッド1
I M A 1 _ S c _ 対立 遺伝子 _ シ ョート	見つからず	1 つの対立遺伝子	配列番号 1 2 及び配列番号 1 3 をそれぞれコードする 2 つの対立遺伝子
I M A 1 _ S c _ 対立 遺伝子 _ ロ ング	S a c c h a r o m y c e s c e r e v i s i a e A W R I 1 6 3 1 及び K y o k a i 第 7 号と 9 9 % の アミノ酸配列同 一性を有するタン パク質をコード する 1 つの対 立遺伝子	2 つの対立遺伝子	配列番号 1 4 をコードするラガー 1 に類似する 1 つの対立遺伝子 配列番号 1 5 をコードする類似する エール 1 対立遺伝子を有する 1 つの 対立遺伝子
I M A 5	2 つの対立遺伝子: 対立遺伝子 1 : S c - I M A 5 様 コピー, 対立遺伝子 2 : 非-S c - I M A 5	1 つの対立遺伝子: S c - I M A 5 様 コピー,	2 つの対立遺伝子: 配列番号 1 6 をコードする非-S c - I M A 5 様コピー, 配列番号 1 7 をコードするエール 1 対立遺伝子に類似する S c - I M A 5 様
A G T 1	2 つの対立遺伝子であるが、1 つのみが機能する: 対立遺伝子 1 : S c コピーは終 止コドンをも有す る (ポリ T での 余分な T) → 一端が欠失され ている  対立遺伝子 2 : S 2 8 8 C に 8 7 % の配列同一 性を有するタン パク質をコード する非 S c コピ ー	1 つの対立遺伝子: S c コピー	3 つの対立遺伝子: ラガー 1 に見出される A G T 1 の非 - s c コピーと 1 0 0 % 同一である 非-s c コピー A G T 1 の非-s c コピーは、配列番 号 1 8 の A G T 1 をコードする。  対立遺伝子 1 に見出される S c コピ ーに非常に類似した、配列番号 1 9 及び配列番号 2 0 をそれぞれコード する、2 つの S c 対立遺伝子

10

20

30

40

## 【 0 5 0 2 】

表 1 2 b には、ラガー酵母 2、ハイブリッド酵母 4、及び、ハイブリッド酵母 7 での糖  
資化に関係した様々な遺伝子の状態をまとめてある。

## 【 0 5 0 3 】

【表 1 2 b】

	ラガー酵母 2	ハイブリッド酵母 4	ハイブリッド酵母 7
LONG_IMA1	1つの対立遺伝子:	3つの対立遺伝子: 配列番号 2 1 をコードする 2つの対立遺伝子及び配列番号 2 2 をコードする 1つの対立遺伝子。すべての対立遺伝子は、ヌクレオチド配列に基づいたハイブリッド特性を有している。	3つの対立遺伝子: 1つの対立遺伝子は、ラガー 2 対立遺伝子と同一であり、及び、配列番号 2 4 をコードし、1つの対立遺伝子は、エール 1 対立遺伝子と同一であり、及び、配列番号 2 3 をコードし、及び、1つの対立遺伝子は、ハイブリッド特性を有しており、配列番号 2 5 をコードする。
AGT 1	2つの対立遺伝子: 対立遺伝子 1: S c 対立遺伝子は、早期終止コードを含んでおり、一端が欠失されているタンパク質をコードする。 対立遺伝子 2: 非 S c 対立遺伝子	3つの対立遺伝子: 対立遺伝子 1: S c 対立遺伝子は、終止コードを含んでおり、一端が欠失されているタンパク質、配列番号 2 6 をコードする。 2つの非 S c 対立遺伝子: 1つは、配列番号 2 8 をコードするラガー 2 非 S c コピーと同一であり、1つは、配列番号 2 7 をコードし、そこでは、1つのアミノ酸が改変されている。	4つの対立遺伝子: 2つの非 S c 対立遺伝子: 1つは、配列番号 3 1 をコードするラガー 2 非 S c コピーと同一であり、及び、1つは、配列番号 3 2 をコードし、そこでは、1つのアミノ酸が改変されている。 2つの S c 対立遺伝子: 1つは、配列番号 3 0 をコードするエール 1 S c 対立遺伝子と同一であり、及び、1つは、配列番号 2 9 の一端が欠失されているタンパク質をコードするラガー 2 S c 対立遺伝子と同一である。

10

20

30

## 【 0 5 0 4】

数種類の遺伝子が、イソマルトースの資化に関係し得る。これには、糖輸送体で、イソマルトースを輸送することができる A g t 1 p を含む。さらに、 - 1, 6 - グルコシダーゼである 5 つの異なるイソマルターゼがあるが、それらは、他のグルコシダーゼ活性も有する。

## 【 0 5 0 5】

ゲノム配列情報に基づいて、ラガー酵母 1 と同定された完全コード配列を有する I M A 1 遺伝子は皆無であり、N C B I データベースで認められた他の S . p a s t o r i a n u s 株も、S . c e r e v i s i a e I M A 1 遺伝子のコピーを有していなかった。興味深いことに、ハイブリッド酵母 1 は、異なる 2 つの長さの I M A 1 遺伝子の 4 つの異なる対立遺伝子を含む。

40

## 【 0 5 0 6】

I M A 5 様配列が、ラガー酵母 1 のゲノムに存在する。ハイブリッド酵母 1 には、2 つの対立遺伝子があり、1 つは、ラガー酵母 1 と同一の非 S . c e r e v i s i a e コピーであり、及び、1 つは、エール 1 酵母で認められた配列と非常に類似しているが、3 つのアミノ酸が改変されている S . c e r e v i s i a e コピーである。

## 【 0 5 0 7】

マルトリオース及びイソマルトースの輸送は、遺伝子 A G T 1 によってコードされる高親和性 - グルコシド輸送体によって促されることが示された。この輸送体は、広範な基質特異性を有している。

50

## 【0508】

我々は、ラガー酵母1において、*S.cerevisiae*を起源としないAGT1輸送体の完全コピーを1つだけ見出し、*S.cerevisiae*コピーの一端が欠失されていた。これに対して、ハイブリッド酵母1は、AGT1遺伝子の3つの完全コピーを有しており、1つはラガー酵母1で見出される非*S.cerevisiae*コピーと同一であり、2つの*S.cerevisiae*対立遺伝子は、エール酵母1で見出されるAGT1遺伝子と非常に類似しているが、1つのアミノ酸が改変されている。

## 【0509】

ハイブリッド酵母4において、1つのコピーが1つのアミノ酸の変化を持つ、非*S.cerevisiae* AGT1の2つの全長コピーが同定された。ハイブリッド酵母7において、3つの全長コピーが同定され、エール酵母1 AGT1と完全に同一である1つと、非*S.cerevisiae* AGT1の2つの対立遺伝子であり、1つのコピーがアミノ酸の変化を有していた。

10

## 【0510】

上記のゲノム配列の研究に加えて、上記のエール酵母1のIMA1\_ショート遺伝子座に特異なプライマーを使用して、クローニングと配列決定を行うことによって、ラガー酵母1、及び、ラガー酵母2、ならびに、ハイブリッド酵母1、ハイブリッド酵母4、及び、ハイブリッド酵母7でのIMA1\_ショートに関する別の情報が取得された。ゲノム配列情報に基づくと、IMA1\_ショート遺伝子は、ラガー1及びラガー2酵母ゲノム配列には認められなかった。しかしながら、双方のラガー酵母親由来のIMA1\_ショートのクローニングと配列決定により、1つの遺伝子の存在を示したが、対応するエール酵母1 IMA1\_ショートタンパク質とは6つのアミノ酸が相違しているタンパク質をコードしている。このデータは、以下の表12cにまとめられている。

20

## 【0511】

ハイブリッド酵母1において、クローニングと配列決定により、3つのIMA1\_ショート対立遺伝子が同定され、2つの対立遺伝子は、本明細書において上記のものであり、さらなる対立遺伝子は、ヌクレオチド配列とタンパク質レベル(配列番号1に示したタンパク質配列)からも基づいて、ハイブリッド特性を有している。ハイブリッド酵母4及び7は、双方の親に由来するIMA1\_ショートを保持していたが、クローニングにより、双方のハイブリッドにおいて固有のアミノ酸の改変を有する別の対立遺伝子も同定された。よって、3つすべてのハイブリッド株は、3つのIMA1\_ショート対立遺伝子を含んでいた。

30

## 【0512】

対立遺伝子変異のIMA5分析は、当該ゲノム配列で入手可能な配列に基づいて行われた。表12aにおいて上記の対立遺伝子に加えて、ハイブリッド酵母1は、さらなる1つの対立遺伝子を含んでいた。よって、ハイブリッド酵母1及びハイブリッド酵母7の双方は、Sc\_IMA5及び非Sc\_IMA5コピーを保持していた。ハイブリッド酵母7は、Sc\_IMA5遺伝子座でのエール酵母1とラガー酵母2との間の組み換えに起因する固有のハイブリッドSc\_IMA5対立遺伝子を有している。ヌクレオチド配列から、ハイブリダイゼーションは明らかであり、また、タンパク質配列で見取ることができる。

40

## 【0513】

【表 1 2 c - 1】

表 1 2 c

	ラガー酵母 1 (ラガー 1)	ラガー酵母 2 (ラガー 2)	エール酵母 1 (エール 1)
I M A 1 - ショート	1つの対立遺伝子 P C Rによってクローニングされ、エール 1とは、6つのアミノ酸が相違している	1つの対立遺伝子 P C Rによってクローニングされ、かつ、ラガー 1 (配列番号 2)と同一である	1つの対立遺伝子 (クローニングによって確認された)
I M A 5	2つの対立遺伝子: S c _ I M A 5 コピー (エール 1とは3つのアミノ酸が相違している) 非 S c _ I M A 5	2つの対立遺伝子: S c _ I M A 5 I コピー (ラガー 1と同一) 非 S c _ I M A 5 (コード領域において、ラガー 1に関する2つの S N Pを有している)	1つの対立遺伝子: S c - I M A 5 コピー
	ハイブリッド酵母 1 (ハイブリッド 1)	ハイブリッド酵母 4 (ハイブリッド 4)	ハイブリッド酵母 7 (ハイブリッド 7)
I M A 1 - ショート	3つの対立遺伝子 クローニングを介して認められた。 1つの対立遺伝子 (v A) は、エール 1の対立遺伝子と同一であり、1つの対立遺伝子 (v B) は、エール 1とは1つのアミノ酸が違っている。 これら2つの対立遺伝子は、配列番号 1 2 及び配列番号 1 3をコードしている。 1つの対立遺伝子は、ハイブリッド 1に固有のものであり、かつ、配列番号 1をコードしている。	3つの対立遺伝子 クローニングを介して認められた。 1つの対立遺伝子は、ラガー 2の対立遺伝子と同一であり、かつ、配列番号 2をコードしている。 1つの対立遺伝子は、エール 1の対立遺伝子と同一であり、かつ、配列番号 3をコードしており、もう1つの対立遺伝子はヌクレオチド変化を有しているが、やはり、配列番号 3をコードする。	3つの対立遺伝子 クローニングを介して認められた。 1つの対立遺伝子は、ラガー 2の対立遺伝子と同一であり、配列番号 5をコードしている。 1つの対立遺伝子は、エール 1の対立遺伝子と同一であり、配列番号 3 3をコードしている。 1つの対立遺伝子は、ラガー 2由来の対立遺伝子に似ており、ヌクレオチド変化及び固有のアミノ酸改変を有している (配列番号 4)。

10

20

30

40

【表 1 2 c - 2】

I M A 5	<p>3つの対立遺伝子: 1つの S c I M A 5 対立遺伝子であって、配列番号 1 7 をコードするエール 1 の対立遺伝子に類似している。 1つの固有の対立遺伝子であって、クローニングによって同定され、固有の 3 つのアミノ酸改変を有する I M A 5 (配列番号 3 4) をコードしている。 1つの非 S c _ I M A 5 対立遺伝子であって、配列番号 1 6 をコードするラガー 1 の対立遺伝子に似ている。</p>	検出されず	<p>2つの対立遺伝子: 1つの S c _ I M A 5 対立遺伝子であって、配列番号 3 5 をコードする固有のハイブリッドコピーである。 1つの非 S c _ I M A 5 対立遺伝子であって、配列番号 3 6 をコードするラガー 2 の対立遺伝子と同一である。</p>
---------	--	-------	--

10

20

## 【 0 5 1 4 】

## 実施例 1 1

マルツロース、マルトトリオース、及び、コージピオースの資化のデータは、2 g / L のマルツロースまたは 2 g / L のマルトトリオースまたは 2 g / L のコージピオースを唯一の炭素源として含む所定の培地での異なる酵母の成長を測定することによって取得された。

## 【 0 5 1 5 】

凍結ストックからの酵母細胞を、Y P D プレート ( 1 % 酵母エキス、2 % ペプトン、2 % グルコース及び 2 % 寒天) に画線し、成長している細胞を、液体 Y P D ( 1 % 酵母エキス、2 % ペプトン、2 % グルコース) に接種した。

30

## 【 0 5 1 6 】

3  $\mu$  l の終夜液体 Y P D 培養物を、アミノ酸を含まずに、硫酸アンモニウムを含み、フタル酸水素カリウムで p H 5 . 5 にまで緩衝され ( H a h n - H a g e r d a l B . e t a l . 2 0 0 5 ) 、 2 g / L のマルツロースまたは 2 g / L のマルトトリオースまたは 2 g / L のコージピオースを唯一の炭素源として含む、Y N B ( 6 . 7 g / L ) の 1 0 0  $\mu$  l 培養物へ接種した。

## 【 0 5 1 7 】

細胞の成長を、攪拌を継続しながら、6 0 0 n m での光学密度を測定し、B i o s c r e e n C M B R ( O y G r o w t h C u r v e s A b L t d 、フィンランド) を用いて、2 0 の温度でインキュベーションすることによって、観察が行われた。

40

## 【 0 5 1 8 】

エール酵母 1、ハイブリッド酵母 1、ハイブリッド酵母 4、及び、ハイブリッド酵母 7 が、マルトトリオースを唯一の炭素源として資化できるかどうかについても試験を行った。その結果を図 1 3 に示す。

## 【 0 5 1 9 】

エール酵母 1、ハイブリッド酵母 1、ハイブリッド酵母 4、ハイブリッド酵母 7、S . d i a s t a t i c u s、及び、ハイブリッド酵母 8 が、マルツロースを唯一の炭素源として資化できるかどうかについても試験を行った。その結果を図 1 4 に示す。

## 【 0 5 2 0 】

エール酵母 1、ラガー酵母 1、ラガー酵母 2、S . d i a s t a t i c u s、ハイブ

50

リッド酵母 1、ハイブリッド酵母 4、ハイブリッド酵母 7、及びハイブリッド酵母 8 が、  
 コージビオースを唯一の炭素源として資化できるかどうかについても試験を行った。その  
 結果を図 15 に示す。示されるように、ラガー酵母 1 とラガー酵母 2 はいずれも、コージ  
 ビオースを唯一の炭素源として資化できないが、*S. diastaticus* だけが、  
 ほんの僅かコージビオースを唯一の炭素源として資化できる。

【0521】

実施例 12

ハイブリッド酵母 7 を用いて発酵をした場合に得られる真正発酵度をさらに検証するた  
 めに、大規模試験が行われた。異なる混合物から大規模に調製した麦汁を、ラガー酵母 2  
 またはハイブリッド酵母 7 のいずれかを用いて、ジアセチルが所定値になるまで、異なる  
 場所で発酵させた。真正発酵度(RDF)が、決定された。表 13 は、ラガー酵母 2 を用い  
 て発酵させた後に得た RDF と比較して、ハイブリッド酵母 7 を用いて発酵させた後に得  
 た RDF % の絶対的増加を示す。

10

【0522】

麦芽、大麦(すなわち、麦芽にしていなない大麦粒)及び米を異なる比率で糖化させること  
 によって、麦汁を調製した。加えて、様々な量のグルコースシロップを添加した。異なる麦  
 汁を調製するために用いた麦芽:大麦:グルコースシロップ:米の比率も、表 13 に示す。

【0523】

【表 13 - 2】

表 13

20

国 名	ポーランド	インド	フィンランド	ロシア
レシピ (麦芽:大麦:グルコー ス シロップ:米)	5 1 : 2 0 : 2 9 : 0	3 5 : 0 : 0 6 5	6 8 : 2 2 : 1 0 : 0	7 3 : 2 0 : 7 : 0
RDF の増加	2 %	1 %	3 %	2.3 %

【0524】

30

略語

RDF - 真正発酵度

YPD - (1%酵母エキス、2%ペプトン、2%グルコース)

YPDプレート (1%酵母エキス、2%ペプトン、2%グルコース及び2%寒天)

YNB (酵母用ニトロゲンベース)

OD: 光学密度

HPLC: 高速液体クロマトグラフィー

YPガラクトースプレート (1%酵母エキス、2%ペプトン、2%ガラクトース及び2%寒天)

【 図 1 - 1 】

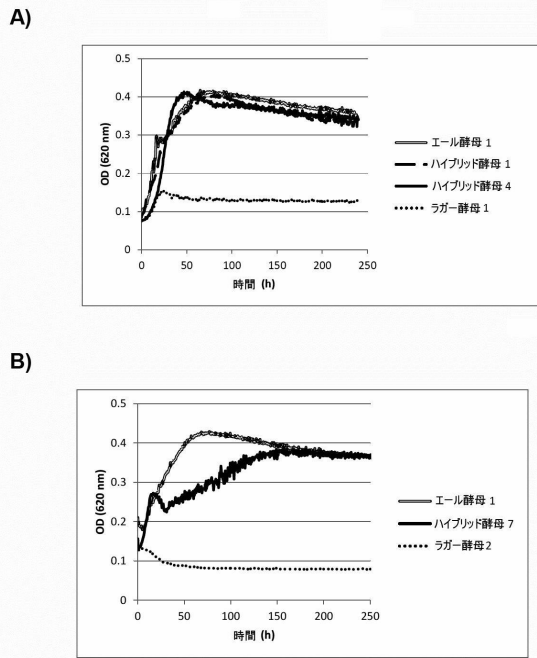


Fig. 1

【 図 1 - 2 】

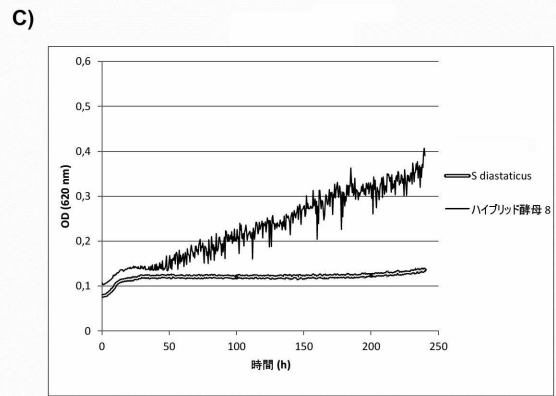


Fig. 1 - 続き

【 図 2 - 1 】

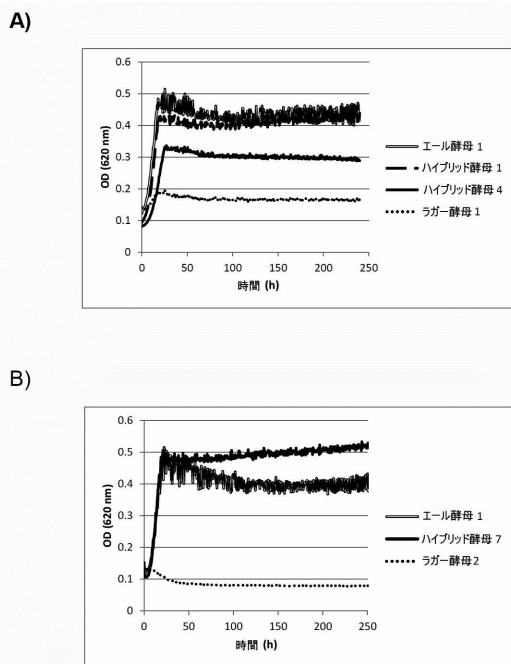


Fig. 2

【 図 2 - 2 】

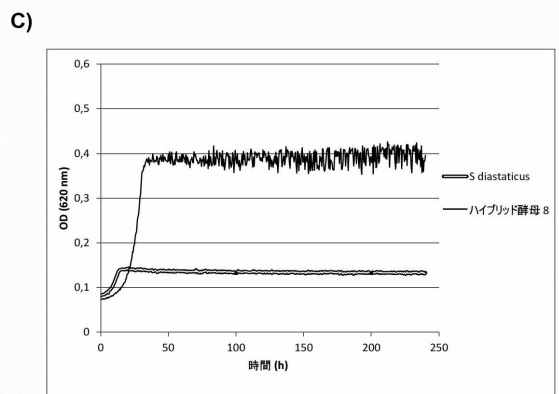


Figure 2 - 続き









【 図 16 】

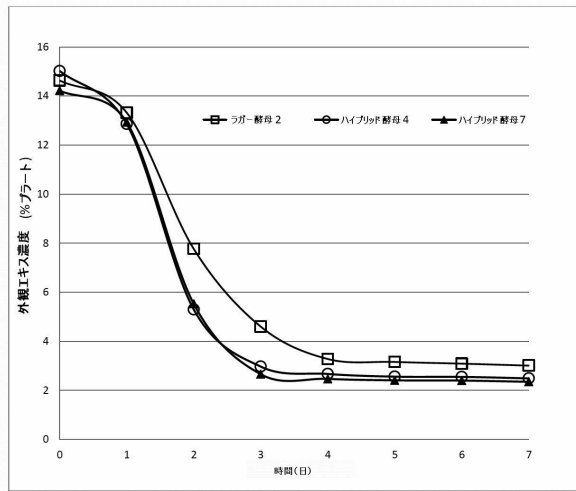


Fig. 16

【 配列表 】

[0006967968000001.app](#)

## フロントページの続き

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ソロドフニコヴァ, ナタリア イュー.

デンマーク国 2400 コペンハーゲン アヌヴェー, ルンデダルスヴェイ 29 ストリート1

(72)発明者 アンデルセン, イェッペ フランク

デンマーク国 2800 コンゲンス リュンビュー, ヴィデゴルスパルク 30

(72)発明者 ガルシア, サンチェス ローサ

スウェーデン国 21128 マルメ, エストラ プロメナデン 9ペー

(72)発明者 ゴイコヴィチ, ゴラン

デンマーク国 2840 ホルテ, エルネバッケン 49

審査官 伊達 利奈

(56)参考文献 国際公開第2012/177854(WO, A2)

Eukaryotic Cell, 2007, Vol.6, No.10, pp.1805-1813

FEBS OPEN BIO, 2014年02月15日, VOL:4, NR:1, PAGE(S):200 - 212

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 1/00

C12N 15/00

PubMed