

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292039

研究課題名(和文) mRNA fluxの改変による酵母アルコール発酵能とストレス耐性の飛躍的改良

研究課題名(英文) Improvement of yeast fermentability and stress tolerance through the modification of mRNA flux

研究代表者

井沢 真吾 (Shingo, Izawa)

京都工芸繊維大学・応用生物学系・准教授

研究者番号：10273517

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：ある種のストレス下では翻訳が抑制され、特定のmRNAが優先的に翻訳されることが近年明らかになってきた。本研究ではストレス下の酵母細胞で選択的・優先的に翻訳される遺伝子の同定に取り組み、高濃度エタノールによって引き起こされる翻訳抑制下ではBTN2 mRNAが、バニリンなどのバイオマス由来発酵阻害物質に起因する翻訳抑制下ではADH7やBDH2、VFH1の mRNAが優先的に翻訳されることを明らかにした。また、これらの遺伝子のプロモーター領域を用いることで、他の遺伝子の優先的な発現も可能になることが確認され、これらのプロモーターが酵母のストレス耐性や発酵効率の改善に役立つことを見出した。

研究成果の概要(英文)：It has lately been proven that specific mRNAs are preferentially and selectively translated under stress conditions that repress overall protein synthesis. These facts suggest that, in addition to transcription regulation, gene expression is also precisely regulated at the cytoplasmic translation stage. This study focused on the preferential and selective translation in yeast cells under stress. As the achievements acquired, we succeeded to newly identify mRNAs (BTN2, ADH7, BDH2, and VFH1) that can be preferentially and selectively translated under pronounced translation repression caused by severe ethanol stress and vanillin. We also found that the promoter regions of these genes enable efficient expression of other genes under severe ethanol stress or severe vanillin stress. Our findings strongly suggest that the promoters examined in this study are expected to become useful tools in the modification of gene expression under severe stress conditions and during the brewing process.

研究分野：応用微生物学

キーワード：BTN2 BDH2 ADH7 VFH1 vanillin ethanol stress translation repression yeast

### 1. 研究開始当初の背景

酵母をはじめとする真核生物の場合、熱ショックやエタノールなどのある種のストレス条件下では選択的な mRNA の核外輸送と翻訳制御が行われ、ストレスへの対処に急ぎ必要とされる遺伝子を優先的に発現することが知られている。細胞質側では、それまで翻訳されていた大部分の mRNA が RNA 結合タンパク質とともに P-body や stress granule を形成してリボソームから隔離されることにより、ストレスへの対処に必要な mRNA に翻訳装置を優先し、効率的・選択的な翻訳を可能にしている(Buchan *et al.*, *J. Cell Biol.*, 2008; Izawa and Inoue, *Biotech. Appl. Biochem.*, 2009)。このように、酵母細胞はストレスへの対処に必要な遺伝子の発現に注力することから、大部分の翻訳が抑制されるストレス条件下でも優先的に翻訳される mRNA は、ストレスへの適応や耐性獲得において極めて重要で、真に必要なとされていると考えられている。

しかしながら、熱ショック以外のストレス種では、どのような mRNA が優先的に翻訳されるのか明らかにされていないのが現状である。興味深いことに、熱ショック、エタノールストレスともに HSP 遺伝子の転写は活性化するが、熱ショック下で HSP mRNA の輸送と翻訳が優先的に行われるのに対し、エタノールストレス下では HSP mRNA は核内に蓄積してしまいほとんど翻訳されないことを申請者は明らかにしている(Izawa *et al.*, *Biochem. J.*, 2008)。そのため、ストレスによって転写活性化される遺伝子が必ずしも優先的に翻訳されている訳ではなく、転写から翻訳に至る一連の流れ(mRNA flux)でストレス応答をとらえることが真核生物の場合重要である。一方、有効活用という点で、第二世代バイオエタノールは今後の規模拡大が期待されている再生可能な石油代替エネルギーである。しかし、バイオマスの前処理の過程ではフラン化合物やバニリンなどの発酵阻害物質が副産物として生じてしまう。これらのバイオマス由来発酵阻害物質は酵母の生育や発酵能を著しく抑制・阻害するため、発酵効率や製造コストなどの面で大きな問題となっている。酵母の生育や発酵能がどのようなメカニズムで抑制されるのかは長らく不明であったが、これらの発酵阻害物質による翻訳活性の抑制が生育阻害の大きな原因となっていることを申請者は明らかにした(Iwaki *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2013; Iwaki *et al.*, *PLoS One*, 2013)。また、バイオエタノール製造と密接に関連するエタノールや酸などのストレスも翻訳抑制を誘導することを報告している(Izawa *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005; Iwaki *et al.*, *Biochem.*

*J.*, 2012)。これらの発酵関連ストレス下では大部分の mRNA の翻訳が抑制される一方で、ストレスへの適応や耐性獲得の上で重要な mRNA が選択的に翻訳されていることが示唆されていたが、どの mRNA が優先的に翻訳されるのかは特定されていなかった。

### 2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、ストレスへの適応や耐性獲得において重要な役割を担う「ストレス下でも翻訳される mRNA」を本研究では明らかにする。本研究ではエタノールとバイオマス由来発酵阻害物質によるストレスについて解析を行う。高濃度エタノールおよび主要な発酵阻害物質であるバニリン、フルフラール、5-hydroxymethylfurfural (HMF)存在下でも阻害されず優先的に翻訳される mRNA 種を同定し、これらのストレスへの対処に真に必要なとされている遺伝子を明らかにする。さらに、mRNA flux の観点から応答機構を検証し、不明な点が多い発酵阻害物質に対する酵母のストレス応答について理解を深めていく。

また、同定した遺伝子の過剰発現などにより、発酵阻害物質に対する酵母の耐性を向上させる。さらに、同定した mRNA の情報をもとに、発酵阻害物質存在下でも抑制されない遺伝子発現系を新たに構築し、ストレス耐性やアルコール発酵能の向上に関連する遺伝子の発現強化を通じて発酵効率の飛躍的な向上を目指す。また、実際のバイオエタノール製造過程では複数の阻害物質やストレスが発酵タンク内に混在していることから、複合ストレス応答についても mRNA flux の解析をおこない、実際のバイオエタノール製造に活用できる新たな知見を収集する。

発酵関連ストレスに対する酵母の応答を mRNA flux の観点から解析した報告例は国内外ともに見当たらず、世界的にもユニークなアプローチである。第二世代バイオエタノール製造に関する技術的・経済的諸問題を解決する上で、独自の切り口で飛躍的な改良をもたらす可能性をもつ研究だと考えている。また、本研究は実験室レベルでの解析に留まらず、実際の製造現場を考慮して優良実用酵母株を用いた実践的解析をおこなう点も大きな特徴である。

### 3. 研究の方法

翻訳抑制ストレス下でもポリソームで優先的に翻訳される mRNA 種の同定

木質・草本系バイオマス由来発酵阻害物質のうちバニリンは最も発酵阻害効果が高く、10 mM 前後で翻訳活性を著しく低下させ cytoplasmic mRNP granule の形成を誘導する(Iwaki *et al.*, *PLoS One*, 2013)。そのため、大部分の mRNA は翻訳されず P-body や stress granule といった cytoplasmic mRNP granule に

隔離されるが、一部の mRNA はバニリン存在下でもポリソームで翻訳されることが確認されている。バニリンストレス下でも優先的に合成される翻訳産物がバニリン耐性獲得において極めて重要な役割を担っていると考えられることから、バニリンストレス下でもポリソームに含まれ翻訳される mRNA の同定を最初におこなった。ストレス下のポリソーム画分から回収した mRNA は DNA マイクロアレイ解析により遺伝子を同定し、それぞれの遺伝子について下記の解析を通じてバニリン存在下で優先的に翻訳されることを確認した。なお、対照実験として非ストレス条件下のポリソームに含まれる mRNA を解析した。同様の実験を高濃度エタノールについても実施した。

#### mRNA の転写・翻訳レベルの確認

上記の解析で同定した遺伝子が、実際にバニリンストレスや高濃度エタノールストレス条件下で優先的に翻訳されるのか確認した。タンパク質レベルの変化を Western blot 解析で、mRNA レベルの変化を定量的リアルタイム PCR でそれぞれ解析し、転写・核外輸送・翻訳といった一連の mRNA flux に対する高濃度のバニリンとエタノールの影響を検証した。

#### ストレス応答機構の検証

上記の解析によって同定した遺伝子の遺伝子破壊株を構築してバニリンに対する感受性を解析し、各遺伝子がコードする翻訳産物の機能を考慮しながらバニリンストレス応答における役割と重要性を検証した。また、ストレスに対する初期応答段階・適応段階・回復段階のそれぞれにおいて優先的に翻訳される mRNA の違いを踏まえて、各ストレス応答段階で必要とされる遺伝子発現とその役割を検討した。同様の解析を、高濃度エタノールストレスに対する応答についても実施した。

#### ストレス耐性改良の検討

上記の解析を通じてバニリンやエタノール耐性獲得において重要だと思われる遺伝子(群)について、多コピーベクターを導入して過剰発現株を構築し、バニリンに対する耐性が改善されるか検討した。単一遺伝子の過剰発現では、バニリン耐性を効果的に付与できないことも予想されたので、同定した遺伝子の細胞内機能を考慮しつつ、多重で過剰発現させて最も高いバニリン耐性を付与する遺伝子の組み合わせを検討した。その後、バニリン含有培地を用いたバイオエタノール製造において、生産効率の飛躍的向上が可能か検証した。

翻訳抑制ストレス下でも機能する新規遺伝子発現系の構築

バニリン存在下でも翻訳や核外輸送が抑制されない mRNA の配列情報を利用して、任意の遺伝子をバニリンストレス下で優先的に発現させる系を開発した。の解析で同定した遺伝子の非翻訳領域である 5'-UTR と

3'-UTR に対応するプロモーター領域とターミネーター領域をクローン化し、任意の mRNA の核外輸送と翻訳がバニリンによって阻害されないか検討した。

#### 4. 研究成果

高濃度エタノールやバニリンなどによる翻訳抑制下で優先的に翻訳される mRNA (*BTN2*, *ADH7*, *BDH2*, *VFH1* など)を同定し、報告した (Nguyen *et al.* 2015; Ishida *et al.* 2016; Yamauchi and Izawa 2016; Ishida *et al.* 2017; Nguyen *et al.* 2017 投稿中)。

高濃度エタノールによる翻訳抑制下で優先的に翻訳される *BTN2*

*BTN2* は v-SNARE binding protein をコードしており、細胞内のタンパク質輸送や核への変性タンパク質の隔離に関与している (Kama *et al. Mol. Cell. Biol.*, 2007; Miller *et al., EMBO J.*, 2015)。Btm2 は様々なタンパク質の正しい局在に重要な役割を担っているため、*btm2Δ* 欠損株はエタノールをはじめとして様々なストレスに対して高い感受性を示すことが報告されている。*BTN2* がコードするタンパク質は、非ストレス条件下では Western blot でほとんど検出されなかったが、8-10% エタノールでのストレス処理によって顕著な上昇が認められた。この結果は、大部分の mRNA の核外輸送や翻訳が抑制されてしまう高濃度エタノールストレス下でも、*BTN2* mRNA は活発に合成され、さらに優先的に翻訳されることを示していた。

一方、高濃度エタノールによる発現誘導で上昇した Btm2 タンパク質レベルは、エタノールストレスを取り除くとすみやかに減少し、45 分以内に消失することが確認された。また、10%から 5%にエタノールストレスを緩和することによっても、Btm2 タンパク質は消失した。非ストレス条件下で *BTN2* を過剰発現させると生育の遅延を引き起こすこともあわせて考慮すると (Spoko *et al., Mol. Cell.*, 2006)、*BTN2* の発現はストレス条件下でのみ必要とされており、非ストレス条件下ではむしろ有害だと考えられた。

また、*BTN2* のプロモーターを利用して、高濃度エタノールストレス下で他の遺伝子の発現を誘導できるか検討を行った。*BTN2* プロモーターの下流に *GIC2* や *YURI* などの他の遺伝子の open reading frame (ORF)を連結すると、これらの遺伝子は非ストレス条件下ではほとんど発現しなかったが、高濃度エタノールによって転写の活性化とタンパク質の合成が誘導され、優先的な翻訳が確認された。この結果は、エタノール濃度の上昇によって翻訳活性や発酵能が弱くなった醸造過程終盤の酵母細胞を再活性化するためのカンフル剤として、*BTN2* プロモーターが利用できるのではないかという着想に至った。

バニリンによる翻訳抑制下で優先的に翻訳される *ADH7*・*BDH2*・*VFH1*

第二世代バイオエタノールの製造におい

て用いられるリグノセルロース系バイオマスは、糖化するために酸や加圧熱水で前処理される。その際に、vanillin や furfural, 5-hydroxymethyl furfural (HMF)などの発酵阻害物質が副産物として生じてしまう。Vanillin と furfural は酵母の翻訳活性を抑制する作用があり、とくにバニリンはその効果が高く、7.5 mM 以上でタンパク質の合成を強くブロックする。そこで筆者らは、*BTN2* の場合と同様に、シビアなバニリンストレス下でも優先的に翻訳される mRNA を探索し、これまでに複数同定・報告している。

シビアなバニリンストレス下で優先的に翻訳される mRNA の一つである *ADH7* は、*ADH6* とともに NADPH 依存型の中鎖アルコール脱水素酵素 (medium-chain alcohol dehydrogenase/reductase, MDR) をコードしており、vanillin を vanillyl alcohol へと還元・解毒する。両者は配列が非常によく似たパラログであり、*ADH6* が構成的に発現し、その欠損株 (*adh6Δ*) が低濃度のバニリンに対し感受性を示す。一方、*ADH7* の発現は非ストレス下や低濃度バニリン存在下では認められず、*adh7Δ* の低濃度バニリンに対する感受性も野生株と同様であった。ところが、高濃度バニリン存在下での両遺伝子の発現を解析したところ、両者とも転写レベルは著しく上昇したが、*Adh6* のタンパク質レベルは増加せず、時間とともに減少してしまった。これは、バニリンによる翻訳阻害のために *ADH6* mRNA が翻訳されなかったためだと考えられる。一方の *ADH7* は、タンパク質レベルも上昇し、翻訳が著しく抑制されてしまう 10-15 mM のバニリン存在下でもスムーズにタンパク質合成が行われた。これらの結果から、バニリンによって引き起こされる翻訳抑制条件下でも *ADH7* の mRNA は優先的に翻訳されることが明らかとなった。また、高濃度バニリンに対す感受性は、*adh7Δ* が最も高かった。

さらに、*ADH7* と同様に *BDH2* もシビアなバニリンストレスによる翻訳抑制下で優先的に翻訳されることを明らかにした。NADH 依存型の中鎖アルコール脱水素酵素をコードする *BDH1* と *BDH2* もバニリンをバニリルアルコールへと還元・解毒する。*ADH6* と *ADH7* の場合と同様に、*BDH1* が構成的に発現しているのに対し、*BDH2* の発現は低濃度バニリン存在下では認められなかった。しかし、高濃度バニリン存在下では、*ADH7* と同様に *BDH2* のみが優先的に翻訳され、タンパク質レベルの著しい上昇が確認された。

NADPH 依存型の *Adh7* と NADH 依存型の *Bdh2* という異なるタイプの medium-chain alcohol dehydrogenase/reductase がどちらもバニリンによる翻訳抑制下で優先的に発現することは、酵母がシビアなバニリンストレスに対処する上で有利にはたらくと考えられる。また、*ADH7*、*BDH2* とともに非ストレス条件下や低濃度バニリンストレス下では発現が認められないことから、酵母細胞はマイル

ドなバニリンストレスに対しては *Adh6* と *Bdh1* で十分に対処できているのだと推測される。一方、シビアなバニリンストレスに対しては、*Adh7* と *Bdh2* の加勢を得なければ対処しきれないのかもしれない。そのほか、*VFH1* mRNA もバニリンなどの阻害物質存在下で優先的に翻訳されることを見出した (Nguyen *et al.* 2017 投稿中)。

*ADH7* プロモーターを用いた biomass conversion inhibitors に対する耐性の改善

*HSP26* や *BTN2* と同様に、*ADH7* と *BDH2* のプロモーターによって他の遺伝子の発現を高濃度バニリンストレス下で誘導できるのか検討を行った。両遺伝子のプロモーター下流に *GPX2*、*ADH6*、*ALD6*、*ZWF1* などの遺伝子のコード領域を連結すると、非ストレス条件下や低濃度のバニリン存在下ではこれらの遺伝子の発現は認められなかったが、高濃度バニリン存在下では転写の活性化とそれに対応したスムーズな翻訳が認められ、優先的な翻訳が確認された。これらの結果は、*ADH7* プロモーターや *BDH2* プロモーターを用いた遺伝子発現系が高濃度バニリンによる翻訳抑制条件下でも機能することを示している。そこで、これらのプロモーター下流に *ADH6* や aldehyde reductase をコードする *ALD6* をつなぎ、マルチコピーベクターで酵母細胞に導入したところ、12 mM のシビアなバニリンストレス下での生育を顕著に改善することが可能であった。

また、バニリン以外のバイオマス由来発酵阻害物質である furfural や HMF の影響も検討を行った。*ADH7* と *BDH2* の発現は、HMF によっても誘導されたが、furfural では *BDH2* しか発現が誘導されなかった。実際のバイオマスの加水分解液 (lignocellulosic hydrolysates) 中にはこれら 3 種類の発酵阻害物質が混在している。そこで、vanillin、furfural、HMF の共存下での両遺伝子の発現や耐性改善効果を調べた。その結果、7 mM 以上の濃度で 3 種類の発酵阻害物質が共存するストレス下 (VFH stress) では、酵母の翻訳活性が著しく抑制されることがポリソームプロファイリングによって確認された。しかしこのような翻訳抑制下でも *ADH7* の発現は、転写レベルだけでなく翻訳レベルも活性化され、*Adh7* タンパク質の合成が誘導された。また、*ADH7* プロモーター制御下で *ALD6* の発現を誘導すると、3 種類の発酵阻害物質が共存する VFH ストレス下での酵母の生育が改善することが確認された。一方、*BDH2* の発現誘導は *ADH7* の発現と比較して弱いものであった。これらの結果は、biomass conversion inhibitors に対する耐性向上に *ADH7* プロモーターが活用できるだけでなく、lignocellulosic hydrolysates 中での酵母の生育や発酵能の向上にも役立つ可能性を強く示唆した。

*BTN2* や *ADH7*、*BDH2* に関しては、ターミネーター領域の変更による発現量の有意な変動は認められなかった。そのため、グルコ

ース枯渇に限らず翻訳抑制下で mRNA が優先的に翻訳されるか否かは、プロモーター領域の塩基配列が決定づけていることが強く示唆された。詳細な機構はまだよくわかっていないが、転写開始点よりも上流の配列が重要であることから、転写段階にプロモーターへとリクルートされる mRNA 結合タンパク質などの *trans* 因子が、翻訳抑制ストレス下での mRNA の命運を決定づけていると考えられた。興味深いことに、*BTN2*、*ADH7*、*BDH2*、*VFH1* のいずれもプロモーター領域に HSE を持っていた。しかしながら、グルコース枯渇条件下で *BTN2* や *ADH7* の発現が優先的に誘導される訳ではないので、HSE の種類やプロモーター領域内の他の *cis* element がストレス種ごとの違いに関与していると予想され、今後検討すべき課題となった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

1. Kawazoe N, Kimata Y, Izawa S (2017) Acetic acid causes endoplasmic reticulum stress and induces the unfolded protein response in *Saccharomyces cerevisiae*. *Front. Microbiol.*, *in press*. 査読有.
2. Ishida Y, Nguyen TTM, Izawa S (2017) The yeast *ADH7* promoter enables gene expression under pronounced translation repression caused by the combined stress of vanillin, furfural, and 5-hydroxymethylfurfural. *J. Biotechnol.*, **252**, 65-72. 査読有.
3. Nakajima E, Shimaji K, Umegawachi T, Tomida S, Yoshida H, Yoshimoto N, Izawa S, Kimura H, Yamaguchi M (2016) The histone deacetylase gene *Rpd3* is required for starvation stress resistance. *Plos One*, **11**, e0167554. 査読有.
4. Ito Y, Kitagawa T, Yamanashi M, Katahira S, Izawa S, Irie K, Furutani-Seiki M, Matsuyama T (2016) Enhancement of protein production via the strong *DIT1* terminator and two RNA-binding proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Sci. Rep.*, **6**, 36997. 査読有.
5. Yamauchi Y, Izawa S (2016) Prioritized expression of *BTN2* of *Saccharomyces cerevisiae* under pronounced translation repression induced by severe ethanol stress. *Front. Microbiol.*, **7**, 1319. 査読有.
6. Itooka K, Takahashi K, Izawa S (2016) Fluorescence microscopic analysis of antifungal effects of cold atmospheric pressure plasma in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **100**, 9295-9304. 査読有.
7. Nakamura T, Nguyet VTA, Kato S, Arii Y, Akino T, Izawa S (2016) *Trans* 18-carbon

monoenoic fatty acid has distinct effects from its isomeric *cis* fatty acid on lipotoxicity and gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biosci. Bioeng.*, **123**, 33-38. 査読有.

8. Ishida Y, Nguyen TTM, Kitajima S, Izawa S (2016) Prioritized expression of *BDH2* under bulk translational repression and its contribution to tolerance to severe vanillin stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Front. Microbiol.*, **7**, 1059. 査読有.
9. Mu A, Li M, Tanaka M, Adachi Y, Tai TT, Liem PH, Izawa S, Furuyama K, Taketani S (2016) Enhancements of the production of bilirubin and the expression of  $\beta$ -globin by carbon monoxide during erythroid differentiation. *FEBS Lett.*, **590**, 1447-1454. 査読有.
10. Nguyen TTM, Iwaki S, Izawa S (2015) The *ADH7* promoter of *Saccharomyces cerevisiae* is vanillin-inducible and enables mRNA translation under severe vanillin stress. *Front. Microbiol.* **6**, 1390. 査読有.
11. Takabatake A, Kawazoe N, Izawa S (2015) Plasma membrane proteins Yro2 and Mrh1 are required for acetic acid tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **99**, 2805-2814. 査読有.
12. 井沢真吾 (2015) エタノールおよび発酵関連ストレス下における酵母の mRNA flux. 極限環境生物学会誌, **14**, 46-53. 査読有.

[学会発表](計 16 件)

1. 高濃度エタノールによる翻訳抑制下で優先的に翻訳される *BTN2* mRNA のワイン酵母での解析. 井澤真吾, 加藤沙枝, 山内雪菜. 日本農芸化学会 2017 年度大会. 京都市. 2017-03-17 – 2016-03-20.
2. バイオマス由来発酵阻害物質ストレス下における *ADH7* の優先的発現とその応用. 石田陽子, T.T.M. Nguyen, 井沢真吾. 日本農芸化学会 2017 年度大会. 京都市. 2017-03-17 – 2016-03-20.
3. 高濃度エタノールによる翻訳抑制下で優先的に翻訳される *BTN2* mRNA のワイン酵母での解析. 井澤真吾, 加藤沙枝, 山内雪菜. 日本農芸化学会 2017 年度大会. 京都市. 2017-03-17 – 2016-03-20.
4. 清酒醪で優先的に発現する酵母遺伝子の探索. 濱砂孝文, 佐田尚隆, 徳井美里, 山内隆寛, 山下伸雄, 明石貴裕, 井澤真吾. 日本農芸化学会 2017 年度大会. 京都市. 2017-03-17 – 2016-03-20.
5. 高濃度エタノールによる細胞形態異常とセブチン構成因子の局在変化. 穂本聖奈, 井沢真吾. 酵母遺伝学フォーラム第 49 回 研究報告会. 神戸市. 2016-09-09 – 2016-09-11.

6. バニリンによる翻訳抑制ストレス下での *BDH2* の優先的発現とその応用. 石田陽子, T.T.M. Nguyen, 井沢真吾. 酵母遺伝学フォーラム第49回研究報告会. 神戸市. 2016-09-09 – 2016-09-11.
7. 高濃度エタノールストレス下で優先的に翻訳される遺伝子 *BTN2* の解析. 加藤沙枝, 山内雪菜, 井沢真吾. 酵母遺伝学フォーラム第49回研究報告会. 神戸市. 2016-09-09 – 2016-09-11.
8. Effects of severe ethanol stress on the specific-localization and morphology of *Saccharomyces cerevisiae*. S. Homoto, S. Izawa. 14<sup>th</sup> International Congress on Yeast. Awaji-shima. 2016-09-11– 2016-09-15.
9. A yeast gene that can be preferentially expressed under translation repression caused by severe ethanol stress. S. Kato, Y. Yamauchi, S. Izawa. 14<sup>th</sup> International Congress on Yeast. Awaji-shima. 2016-09-11– 2016-09-15.
10. *VIE1*, a novel gene that can be preferentially translated in the presence of lignocellulosic biomass conversion inhibitors. T.T.M. Nguyen, S. Izawa. 14<sup>th</sup> International Congress on Yeast. Awaji-shima. 2016-09-11– 2016-09-15.
11. The prioritized expression of *BDH2* under bulk translation repression and its contribution to vanillin tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. Y. Ishida, T.T.M. Nguyen, S. Izawa. 14<sup>th</sup> International Congress on Yeast. Awaji-shima. 2016-09-11– 2016-09-15.
12. Prioritized gene expression in *Saccharomyces cerevisiae* under pronounced translation repression caused by severe ethanol stress. S. Izawa. 14<sup>th</sup> International Congress on Yeast. Awaji-shima. 2016-09-11– 2016-09-15.
13. エタノールによる翻訳抑制下でも優先的に翻訳される酵母遺伝子の同定とその応用. 山内雪菜, 井澤真吾. 日本農芸化学会 2016 年度大会. 札幌市. 2016-03-27 – 2016-03-30.
14. 翻訳ストレス下における *BDH2* の優先的発現とバニリン耐性への寄与. 石田陽子, Nguyen Trinh TM, 井澤真吾. 日本農芸化学会 2016 年度大会. 札幌市. 2016-03-27 – 2016-03-30.
15. 翻訳抑制を誘導する高濃度バニリン存在下で発現する酵母 *VEP3* 遺伝子の解析. Nguyen Trinh TM, 井澤真吾. 第 67 回日本生物工学会大会. 鹿児島市. 2015-10-26 – 2015-10-28.
16. エタノールおよび発酵関連ストレス下における酵母の mRNA flux. 井澤真吾. 極限環境生物学会第 16 回シンポジウム. 京都市. 2015-06-06.

〔図書〕(計 1 件)

1. Izawa S (2015) Yeast mRNA flux during brewing and under ethanol stress conditions. pp43-57 in Stress Biology of Yeast and Fungi (ed. Takagi H & Kitagaki H.). Springer.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：  
 国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 取得年月日：  
 国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://kityeast.wixsite.com/kit-yeast-group/study>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井沢 真吾 (IZAWA, Shingo)

京都工芸繊維大学・応用生物学系・准教授  
 研究者番号：10273517

### (2) 研究分担者

杉山 峰崇 (SUGIYMA, Minetaka)

大阪大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

授

研究者番号：80379130

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )