

令和 7 年度 醸造微生物学分野 退職者 「研究の歩み」と「主な研究業績」

玉置 尚徳

(食品生命科学プログラム 醸造微生物学)

研究の歩み

私は、1980 年に京都大学農学部食品工学科に入学し、4 回生から栃倉辰六郎教授の主催する微生物生産学研究室に配属され研究活動を開始しました。卒業論文のテーマは、グルタミン酸生産菌である *Brevibacterium flavum* における高生産変異株の取得で、助手の立木隆先生にご指導いただきました。大学院に進学すると、助教授の熊谷英彦先生にご指導いただくことになり、酵母の Glutathion S-transferase (GST) に関する研究を開始しました。GST は、生体内に侵入した親電子性化合物とグルタチオンとの抱合反応を触媒することで解毒する酵素として高等動物において詳しい研究が行われていましたが、微生物における存在は見出されていませんでした。そこで、各酵母を破碎した無細胞抽出液について GST 活性の測定を行い、比較的高い活性を示した *Issatchenkia orientalis* を選定しました。*I. orientalis* は、培地に *o*-dinitrobenzen (DNB) を加えて培養すると、生育が抑制されますがその後、GST 活性が誘導され、DNB をグルタチオン抱合体として解毒した後、増殖することを見出しました。そこで、誘導条件下で培養した酵母から GST の精製を行うことになりました。ただし、本酵素は、不安定で粗酵素液の状態では、1 週間で酵素活性が半分以下に低下することがわかり、安定化法を探りました。無細胞抽出液に、20%グリセロール、1mM EDTA、2mM DTT を加えると 1 週間は、安定化できましたが、2 週目には失活しました。ただ、安定化剤を加えた酵素液の上層の空気を窒素ガスで置換すると、1 ヶ月以上安定化することを見出しました。しかしながら、常に窒素ガスで置換する方法は現実的でないことから、他の抗酸化剤を試し、亜硫酸ナトリウムを添加することで安定化することを確認し精製を開始しました。様々な前処理やカラムクロマトグラフィーを行い、最終的に分子サイズの異なる 2 種のアイソザイムを精製し、性質を決定しました。その当時の所属研究室では、遺伝子の研究は、まだ大腸菌で始まったばかりでしたが、酵素が精製できたことから真核生物の遺伝子研究をスタートさせ、cDNA ライブラリーの構築から遺伝子のクローニングを行い学位を取得しました。学位取得後は米国に留学し、コーネル大学医学部生化学教室の Alton Meister 教授のもとで 2 年間ヒトのグルタチオン合成酵素に関する研究を行いました。その後 1993 年には、出身研究室(熊谷英彦教授)の助手に採用され酵母を用いた基礎研究を開始しました。また、2007 年からは、鹿児島大学に新設された焼酎学講座(寄付講座)に准教授として赴任し、寄付講座終了後には、後継組織として設立された焼酎・発酵学教育研究センター醸造微生物学部門の准教授、教授として焼酎、酵母、麹菌などに関する基礎ならびに応用研究に従事しました。

以下主な研究内容についてご紹介します。

グルコース受容体遺伝子 *GPR1* の同定

グルコースは、すべての生物にとって最も好まれる炭素源ですが、シグナル分子としても働くことが知られていました。例えば、飢餓状態の酵母にグルコースを与えると、細胞内 cAMP の上昇、プロテインキナーゼ A の活性化を経て細胞の増殖スイッチが ON になると考えられていましたが、最初にグルコースを感知する分子については不明でした。私達は、酵母に 2 つある 3 量体 G タンパク質 α サブユニットのうちまだ機能が解明されていなかった *Gpa2* に着目し、*Gpa2* と相互作用する分子のスクリーニングを酵母ツーハイブリッド法を用いて行い、7 回膜貫通型受容体と思われる遺伝子を同定し *GPR1* と命名しました。*GPR1* 遺伝子破壊株の解析から、*Gpr1* がグルコースを認識して細胞内 cAMP を上昇させることで、細胞の増殖や大きさ、偽菌糸形成を制御することを明らかにしました。

細胞膜リン脂質リモデリング機構の解明

細胞膜を構成するリン脂質は、グリセロール骨格の *sn-1* 位に飽和脂肪酸、*sn-2* 位に不飽和脂肪酸、*sn-3* 位に極性基を持っており、*sn-2* 位のアシル基の不飽和結合により折れ曲がりが生じることで、膜の柔軟性を生み出しています。しかしながら、不飽和結合は酸化などにより切断されやすく、膜の損傷を引き起こします。その場合、酸化されたアシル基を切断して新たなアシル基を導入することで膜を修復する脂質のリモデリング機構の存在が提唱されていました。しかしながら、アシル基を導入するアシル基転移酵素に関しては長らく不明のままでした。出芽酵母では、1996 年にゲノムプロジェクトが完了すると、数年後には、すべての遺伝子のうち、破壊しても致死とならない約 5000 の各遺伝子を破壊した遺伝子破壊株のセットが販売されました。私達は、この破壊株セットのすべての株を培養し、得られた粗酵素液についてアシル基転移活性の測定を行ったところ、その中にアシル基転移活性が欠失している 1 株を見出しました。当該株にて破壊されていた遺伝子を *LPT1* と命名し、機能解析を行ったところ、様々なリゾリン脂質を受容体基質とすること、また供与体基質としては、中鎖脂肪酸で特に不飽和結合を含むものを良い基質とすることが示されたことから、細胞膜リン脂質リモデリングの主要因子の同定に至りました。

焼酎酵母の育種法開発

焼酎酵母は 2 倍体であるため、相同染色体の対立遺伝子を一度に破壊することは困難と考えられていました。私達は、LOH (Loss of Heterozygosity) を利用した焼酎酵母遺伝子破壊システムを構築しました。本システムは、2 つの栄養要求性マーカーからなる破壊カセットを用いて酵母を形質転換し、一方の遺伝子がカセットに置き換わった株をさらに培養、選択することで、LOH による対立遺伝子の二重破壊株を取得し、さらには破壊カセットをループアウトにより除去できる方法です。

また、交配による酵母の育種法も開発しました。酵母にはいわゆる雄と雌が存在し、その区別は *a* と α という 2 つの接合型によって表されます。異なる接合型の酵母が出会うと、接合して 2 倍体となります。また、2 倍体酵母は、飢餓状態に置くと減数分裂を経て 4 つの孢子 (1 倍体) を形成します。このことから、酵母においては、交配による育種が可能です。しかしながら、清酒酵母では、孢子形成率や、孢子発芽率の低さのために、これらの交配法は一般化していません。焼酎酵母は、高い孢子形成能を有するものの、ホモタリックであることから交配させるのが困難と考えられましたが、マイクロマニピュレーターを用い

て胞子を隣接する顕微接合法を開発し、これによって容易に交配育種が可能であることを示しました。

終わりに

酵母研究の醍醐味は、ある表現型を指標として変異株を取得することで、その表現型に関わる様々な遺伝子群が芋づる式に取れてくる点にありましたが、私が酵母研究に参入した頃には、そのようなおいしい部分はやり尽くされていました。しかしながら、ツーハイブリッド法や遺伝子破壊株のセットのような新たなツールが次々と開発されたことで、それまでの方法では取得できなかった分子の同定が可能となったのです。今後も新たなツールや方法の開発によって、酵母が生命科学研究に貢献し続けることを期待します。また、応用研究では、様々な酵母が酒造りや発酵食品製造に利用されていることから、それぞれの産業における酵母に関する研究は、ますます広がりを見せるでしょう。

これまでに、酵母を用いた基礎研究と応用研究の両方に携わることができ大変幸甚でした。

主な研究業績一覧（学術論文、著書、特許なども含む）

【学術論文】

- Ammonia assimilation by glutamine synthetase/glutamate synthase system in *Brevibacterium flavum*; Sung, H.-C., Takahashi, M., Tamaki, H., Tachiki, T., Kumagai, H., Tochikura, T. (1985) *J. Ferment. Technol.*, 63 (5-10)
- Distribution, formation and stabilization of yeast glutathione S-transferase; Kumagai, H., Tamaki, H., Koshino, Y., Suzuki, H., Tochikura, T. (1988) *Agric. Biol. Chem.* 52 (1377-1382)
- Purification and properties of glutathione transferase from *Issatchenkia orientalis*; Tamaki, H., Kumagai, H., Tochikura, T. (1989) *J. Bacteriol.*, 171 (1173-1177)
- Glutathione S-transferase in yeast: Induction of mRNA, cDNA cloning and expression in *Escherichia coli*; Tamaki, H., Kumagai, H., Tochikura, T. (1990) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 172 (669-675)
- Detoxification metabolism of *o*-dinitrobenzene by yeast *Issatchenkia orientalis*; Tamaki, H., Kumagai, H., Shimada, Y., Kashima, T., Obata, H., Kim, C.-S., Ueno, T., Tochikura, T. (1991) *Agric. Biol. Chem.*, 55 (951-956)
- Nucleotide sequence of the yeast glutathione S-transferase cDNA; Tamaki, H., Kumagai, H., Tochikura, T. (1991) *Biochim. Biophys. Acta*, 1089 (276-279)
- Two distinct quinoprotein amine oxidases are induced by *n*-butylamine in mycelia of *Aspergillus niger* AKU 3302. Frebort, I., Tamaki, H., Ishida, H., Pec, P., Luhova L., Tsuno, H., Halata, M., Asano, Y., Kato, Y., Matsushita, K., Toyama, H., Kumagai, H., and Adachi, O. (1996) *Eur. J. Biochem.*, 237, 255-265
- Cloning and nucleotide sequence of the β -D-glucosidase gene from *Bifidobacterium brebe* clb, and expression of β -D-glucosidase activity in *Escherichia coli*. Nunoura, N., Ohdan, K., Tanaka, K., Tamaki, H., Yano, T., Inui, M., Yukawa, H., Yamamoto, K., Kumagai, H. (1996) *Biosci. Biotech. Biochem.* 60(12), 2011-2018
- Vanilin formation by microbial amine oxidases from vanillylamine. Yoshida, A., Takenaka, Y., Tamaki, H.,

Frébort, I, Adachi, O., Kumagai, H. (1997) *J. Ferment. Bioeng.*, 84, 603-605

- G-Protein Coupled Receptor from Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Yun, C.-W., Tamaki, H., Nakayama, R., Yamamoto, K., and Kumagai, H. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 240, 287-292
- Gpr1p, a putative G-protein coupled receptor, regulates glucose dependent cellular cAMP level in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Yun, C.-W., Tamaki, H., Nakayama, R., Yamamoto, K. and Kumagai, H. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 252, 29-33
- Expression of two glutathione S-transferase genes in the yeast *Issatchenkia orientalis* is induced by o-dinitrobenzene during cell growth arrest. Tamaki, H., Yamamoto, K., and Kumagai, H. (1999) *J. Bacteriology*, 181, 2958-2962.
- Molecular Cloning of cDNA Encoding α -N-Acetylgalactosaminidase from *Acremonium* sp. and Its Expression. Ashida, H., Tamaki, H., Yamamoto, K., and Kumagai, H. *Arch. Biochem. Biophys.* 384(2) 305-310. (2000)
- GPR1 regulates filamentous growth through FLO11 in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Tamaki, H., Miwa, T., Shinozaki, M., Saito M., Yun, C.-W., Yamamoto, K., and Kumagai, H. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 267, 164-168.
- Cloning of a gene encoding a highly stable endo- β -1,4-glucanase from *Aspergillus niger* and its expression in yeast. Hong, J., Tamaki, H., Akiba, S., Yamamoto, K., and Kumagai, H. (2001) *J. Bioscience and Bioeng.*, 92, 434-441.
- Cloning of a gene encoding thermo-stable endo- β -1,4-glucanase from *Thermoascus aurantiacus* and its expression in yeast. Hong, J., Tamaki, H., Yamamoto, K., and Kumagai, H. (2003) *Biotechnology Lett.* 25, 657-661
- Cloning of a gene encoding thermostable cellobiohydrolase from *Thermoascus aurantiacus* and its expression in yeast. Hong, J., Tamaki, H., Yamamoto, K., and Kumagai, H. (2003) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63 (1), 42-50.
- Gene Organization and Molecular Modeling of Copper Amine Oxidase from *Aspergillus niger*: Re-Evaluation of the Cofactor Structure. Frébort,, I., ebela, M, Hirota, S., Yamada, M., Tamaki, H., Kumagai, H., Adachi, O., and Pe, P. (2003) *Biol. Chem.*, 384, 1451-1461.
- Characterization of heterotrimeric G protein complexes in rice plasma membrane. Kato, T., Mizutani, T., Tamaki, H., Kumagai, H., Kamiya, T., Hirobe, A., Fujisawa, Y., Kato, H., and Iwasaki, Y. (2004) *Plant J.*, 38 (2), 320-331.
- Gpr1, a Putative G-Protein-Coupled Receptor, Regulates Morphogenesis and Hypha Formation in the Pathogenic Fungus *Candida albicans*. Miwa, T., Takagi, Y., Shinozaki, M., Yun, C.-W., Schell, W. A., Perfect, J. R., Kumagai, H., and Tamaki, H. (2004) *Eukaryot. Cell*, 3 (4), 919-931.
- Glucose-dependent cell size is regulated by a G protein-coupled receptor system in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Tamaki, H., Yun, C.-W., Mizutani, T., Tsuzuki, T. Takagi, Y., Shinozaki, M., Kodama, Y.,

- Shirahige, K., and Kumagai, H. (2005) *Genes Cells*, 10 (3), 193-206.
- Unusual hydrophobic linker region of β -glucosidase (BGLII) from *Thermoascus aurantiacus* are required for hyper activation by organic solvents. Hong, J., Tamaki, H., and Kumagai, H. (2006) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 73 (1), 80-88.
 - Cloning and functional expression of thermo-stable β -glucosidase gene from *Thermoascus aurantiacus*. Hong, J., Tamaki, H., and Kumagai, H. (2007) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 73(6), 1331-1339.
 - Construction of thermotolerant yeast expressing thermostable cellulase genes. Hong, J., Wang Y., Kumagai, H., and Tamaki, H. (2007) *J. Biotechnology*, 130, 114-123.
 - Glucose-Stimulated cAMP-PKA Pathway in Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Tamaki, H. (2007) *J. Biotech. Bioeng.*, 104(4), 245-250.
 - *LPT1* encodes a membrane-bound *O*-acyltransferase involved in the acylation of lysophospholipids in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Tamaki, H., Shimada, A., Ito, Y., Ohya, M., Takase, J., Miyashita, M., Miyagawa, H., Nozaki, H., Nakayama, R., and Kumagai, H. (2007) *J. Biol. Chem.*, 282, 34288-34298.
 - Loss of heterozygosity is induced in *Candida albicans* by ultraviolet irradiation. Takagi, Y., Akada, R., Kumagai, H., Yamamoto, K., and Tamaki, H. (2008) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 77(5), 1073-1082
 - Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of \square -glucosidase from *Kluyveromyces marxianus* NBRC1777. Yoshida, E., Hidaka, M., Fushinobu, S., Koyanagi, T., Minami, H., Tamaki, H., Kitaoka, M., Katayama, T., Kumagai, H. (2009) *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun.* 65, 1190-1192.
 - 奄美大島の伝統飲料「ミキ」の分析. 久留ひろみ, 吉崎(尾花)由美子, 玉置尚徳, 和田浩二, 伊藤清 (2010) 日本醸造学会誌, 105(3), 167-174
 - Analysis of Volatile Compounds in Shochu Koji, Sake Koji, and Steamed Rice by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Yoshizaki, Y., Yamato, H., Takamine, K., Tamaki, H., Ito K., and Sameshima Y. (2010) *J. Inst. Brew.* 116(1), 49-55.
 - 土壌からの焼酎酵母の分離と分離酵母の実用化. 高峯和則, 大山修一, 吉崎由美子, 玉置尚徳, 鮫島吉廣 (2010) 日本醸造学会誌, 105(8) : 546-555
 - Role of a PA14 domain in determining substrate specificity of a glycoside hydrolase family 3 β -glucosidase from *Kluyveromyces marxianus*. Yoshida, E., Hidaka, M., Fushinobu, S., Koyanagi, T., Minami, H., Tamaki, H., Kitaoka, M., Katayama, T., and Kumagai, H. (2010) *Biochem. J.*, 431(1), 39-49
 - Characterization of glucoamylase and α -amylase from *Monascus anka*: Enhanced production of α -amylase in red koji. Yoshizaki, Y., Susuki, T., Takamine, K., Tamaki, H., Ito, K., and Sameshima Y. (2010) *J. Biosci. Bioeng.*, 110(6), 670-674.
 - 奄美大島の伝統飲料「ミキ」中の乳酸菌. 久留ひろみ, 玉置尚徳, 和田浩二, 伊藤清 (2010) 日本醸造学会誌, 105(11), 741-748
 - 芋焼酎に検出されたローズオキサイドの生成機構. 高峯和則, 吉崎由美子, 島田翔吾, 高屋総一

郎, 玉置尚徳, 伊藤清, 鮫島吉廣 (2011) 日本醸造学会誌 106(1), 50-57

- 酒類としてのミキの製造. 久留ひろみ, 吉崎由美子, 玉置尚徳, 和田浩二, 伊藤清 (2011) 日本醸造学会誌 106(3), 157-163
- The formation of beta-damascenone in sweet potato shochu, Yoshizaki, Y., Takamine, K., Shimada, S., Uchihori, K., Okutsu, K., Tamaki, H., Ito, K., and Sameshima Y. (2011) *J. Inst. Brew.* 117(2), 217-223
- Development of a heat-processing method for koji to enhance its antioxidant activity. Okutsu, K., Yoshizaki, Y., Takamine, K., Tamaki, H., Ito, K., and Sameshima, Y. (2012) *J. Biosci. Bioeng.*, 113 (3), 349-354
- *Kluyveromyces marxianus*-based Platform for Direct Ethanol Fermentation and Recovery from Cellulosic Materials Under Air-Ventilated Condition. Matsuzaki, C., Nakagawa, A., Koyanagi, T., Tanaka, K., Minami, H., Tamaki, H., Katayama, T., Yamamoto, K., and Kumagai, H. (2012) *J. Biosci. Bioeng.*, 113 (5), 604-607
- サツマイモに含まれるモノテルペン配糖体の分布.高峯和則, 吉崎由美子, 山本優, 吉竹一哉, 橋本文雄, 玉置尚徳, 鮫島吉廣 (2012) 日本醸造学会誌, 107:782-787
- 韓国伝統的麴「ヌルク」を用いた焼酎製造の可能性.吉崎由美子, 金顯民, 奥津果優, 池永誠, 玉置尚徳, 高峯和則 (2015) 日本醸造学会誌, 110(3), 170-178
- サツマイモの加熱方法が芋焼酎香気に与える影響.吉崎由美子, 松山晃佑, 大庭暁紘, 園田舟, 奥津果優, 玉置尚徳, 高峯和則 (2015)日本醸造学会誌 110(5), 349-356
- Effects of the cultivation period of sweet potato on the sensory quality of imo-shochu, a Japanese traditional spirit. Okutsu, Kayu; Yoshizaki, Yumiko; Kojima, Mai; Yoshitake, Kazuya; Tamaki, Hisanori; Kazunori, Takamine (2016) *J. Inst. Brew.*, 122, 168-174
- Characteristic odour compounds in shochu derived from rice koji. Yohei Shiraishi, Yumiko Yoshizaki, Toshifumi Ono, Hiroaki Yamato, Kayu Okutsu, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami, Sameshima Yoshihiro, and Kazunori Takamine (2016) *J. Inst. Brew.*, 122, 381-387
- Marker recycling system using the *sC* gene in the white koji mold, *Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii*. Kadooka, C., Onitsuka, S., Uzawa, M., Tashiro, S., Kajiwara, Y., Takashita, H., Okutsu, K., Yoshizaki, Y., Takamine, K., Goto, M., Tamaki, H., Futagami T. (2016) *J. Gen. Appl. Microbiol.* 62, 160-163
- Comparison of distribution of oil-degrading filamentous fungi on subtropical Iriomote Island, Japan, and tropical Con Dao Island, Vietnam. Cong Dang Phi Doan, Ayako Sano, Hisanori Tamaki, Hoang Nguyen Duc Pham and Yoshie Terashima, (2016) *TROPICS*, 25(2), 67-76
- Identification and biodegradation characteristics of oil-degrading bacteria from subtropical Iriomote Island, Japan, and tropical Con Dao Island, Vietnam. Cong Dang Phi Doan, Ayako Sano, Hisanori Tamaki, Hoang Nguyen Duc Pham, Xo Hoa Duong and Yoshie Terashima. (2017) *TROPICS*, 25(4), 147-159
- 中国及び韓国の市場品「神麴」における菌叢と含有成分の実態調査. 奥津果優, 門岡千尋, 小城章裕, 吉崎由美子, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則.(2017) 生薬学雑誌、第71巻第1号 41-48

- Key volatile compounds in red koji-shochu, a *Monascus*-fermented product, and their formation steps during fermentation. Yen Yen Sally Rahayu, Yumiko Yoshizaki, Keiko Yamaguchi, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Yoshihiro Sameshima, Kazunori Takamine. (2017) *Food Chem.*, 224, 398-406
- Multi-gene phylogenetic analysis reveals that shochu-fermenting *Saccharomyces cerevisiae* strains form a distinct sub-clade of the Japanese sake cluster. Taiki Futagami, Chihiro Kadooka, Yoshinori Ando, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Shinji Setoguchi, Kazunori Takamine, Mikihiro Kawai, Hisanori Tamaki. *Yeast*, 34(10): 407-415
- プロテアーゼまたは細胞壁分解系酵素剤添加による紅麹焼酎製造法の改良. 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 鮫島吉廣, 高峯和則 (2017) 日本醸造学会誌, 113(4), 265-272
- Genome sequence of *Saccharomyces cerevisiae* strain Kagoshima no. 2, used for brewing the Japanese distilled spirit shochu. Kazuki Mori, Chihiro Kadooka, Chika Masuda, Ai Muto, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Taiki Futagami, and Hisanori Tamaki. *Genome Announc* 5(41) e01126-17
- Characterization of amylolytic enzyme overproducing mutant of *Aspergillus luchuensis* obtained by ion beam mutagenesis. Toshihiro Kojo, Chihiro Kadooka, Marisa Komohara, Shiori Onitsuka, Miya Tanimura, Yukiko Muroi, Shugo Kurazono, Yohei Shiraishi, Ken Oda, Kazuhiro Iwashita, Masahira Onoue, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Taiki Futagami, Kazuki Mori, and Hisanori Tamaki. (2017) *J. Gen. Appl. Microbiol.* 63(6):339-346
- Nanoscale domain formation of phosphatidylinositol 4-phosphate in the plasma and vacuolar membranes of living yeast cells. Kanna Tomioku, Mikiko Shigekuni, Hiroki Hayashi, Akane Yoshida, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kenji Tanabe, Akikazu Fujita. (2018) *Eur. J. Cell Biol.* 97(4): 269-278.
- 芋焼酎の発酵および酒質に及ぼす二次醗pHの影響. 高峯和則, 小島舞, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 吉崎由美子 (2018) 日本醸造学会誌, 113(6), 375-382
- Pex16 is involved in peroxisome and Woronin body formation in the white koji fungus, *Aspergillus luchuensis* mut. kawachii. Daichi Kimoto, Chihiro Kadooka, Pakornkiat Saenrungsri, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Masatoshi Goto, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami. (2019) *J. Biosci. Bioeng.*, 127(1): 85-92.
- Mitochondrial citrate transporters CtpA and YhmA are involved in cytosolic acetyl-CoA biosynthesis in the white koji fungus, *Aspergillus luchuensis* mut. kawachii Chihiro Kadooka, Kosuke Izumitsu, Masahira Onoue, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Masatoshi Goto, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami. (2019) *Appl. Environ. Microbiol.*, 85(8) pii:e03136-18.
- Effect of maturation time on koji-like smell and volatile compounds of barley miso (Japanese soybean paste) during fermentation. Toshihiro Kojo, Mikihiro Kawai, Yohei Shiraishi, Shugo Kurazono, Chihiro Kadooka, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Makoto Ikenaga, Taiki Futagami, Kazunori Takamine, and Hisanori Tamaki. (2019) *Food Science and Technology Research*, 25(2), 313-319

- Shochu slop is an excellent medium for *Escherichia coli* K-12. Hideyuki Suzuki, Kazuki Nishida, and Hisanori Tamaki. (2019) *Lett. Appl. Microbiol.* 68, 505-508
- Effect of *pepA* deletion and overexpression in *Aspergillus luchuensis* on sweet potato shochu brewing. Sho Setoguchi, Osamu Mizutani, Osamu Yamada, Taiki Futagami, Kenichi Iwai, Yoshikazu Takase, and Hisanori Tamaki.(2019) *J. Biosci. Bioeng.* Oct;128(4):456-462.
- Essential and distinct roles of phosphatidylinositol 4-kinases, Pik1p and Stt4p, in yeast autophagy. Yuna Kurokawa; Rikako Konishi; Akane Yoshida; Kanna Tomioku; Taiki Futagami; Hisanori Tamaki; Kenji Tanabe; Akikazu Fujita (2019) *BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1864(9):1214-1225
- Manufactural impact of the solid-state saccharification process in rice-flavor baijiu production. Yin X., Yoshizaki Y., Ikenaga M., Han X.L., Okutsu K., Futagami T., Tamaki H., and Takamine K. *J. Biosci. Bioeng.* 2019 Nov 9. pii: S1389-1723(19)30405-0.
- Analysis of the fungal population involved in Katsuobushi production. Chihiro Kadooka, Eri Nakamura, Shingo Kubo, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Hisanori Tamaki, and Taiki Futagami. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 2020 Sep 30 66(4):239-243
- 白麴菌 *Aspergillus luchuensis* mut. kawachii NBRC 4308 のアルビノ表現型の原因遺伝子の解析. 門岡千尋, 合原翔平, 久保臣悟, 尾上昌平, 奥津果優, 吉崎由美子, 高峯和則, 後藤正利, 玉置尚徳, 二神泰基 (2020) 日本醸造学会誌 115 (6) 369-377
- Effects of liming on the flavor of kokuto-shochu, a spirit made from non-centrifugal sugar. Iwasaki F, Sunao M, Okutsu K, Yoshizaki Y, Futagami T, Tamaki H, Takamine K, and Sameshima Y. (2020) *J. Biosci. Bioengi.*, 130, 360-366
- Microbial Community Structure and Chemical Constituents in Shinkiku, a Fermented Crude Drug Used in Kampo Medicine., Wang Z, Okutsu K, Futagami T, Yoshizaki Y, Tamaki H, Maruyama T, Toume K, Komatsu K, Hashimoto F, Takamine K. (2020) *Frontier in Nutrition*, 7, Article 115
- The characterization of flavor compounds of rice-flavor baijiu, a traditional Chinese distilled liquor, compared with Japanese distilled liquor, awamori and kome-shochu., Yin X, Yoshizaki Y, Kurazono S, Sugimachi M, Takeuchi H, Han X-L, Okutsu K, Futagami T, Tamaki H, Takamine K. (2020) *Food Sci. Technol. Res.*, 26, 411-422
- A CRISPR/Cas9-mediated gene knockout system in *Aspergillus luchuensis* mut. kawachii., Kadooka C, Yamaguchi M, Okutsu K, Yoshizaki Y, Takamine K, Katayama T, Maruyama JI, Tamaki H, Futagami T.(2020) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 84, 2179-2183.
- Sirtuin SirD is involved in α -amylase activity and citric acid production in *Aspergillus luchuensis* mut. kawachii during a solid-state fermentation process. Aoi Miyamoto, Chihiro Kadooka, Kazuki Mori, Yuki Tagawa, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Masatoshi Goto, Hisanori Tamaki, and Taiki Futagami. (2020) *J. Biosci. Bioeng.* 129, 454-466
- LaeA controls citric acid production through regulation of a citrate exporter encoding *cexA* in *Aspergillus*

luchuensis mut. *kawachii*. Chihiro Kadooka, Eri Nakamura, Kazuki Mori, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Masatoshi Goto, Hisanori Tamaki, and Taiki Futagami. (2020) *Appl. Environ. Microbiol.*, 86, e01950-19.

- Citrate exporter enhances both extracellular and intracellular citric acid accumulation in the koji fungi *Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii* and *Aspergillus oryzae*. Eri Nakamura, Chihiro Kadooka, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Masatoshi Goto, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami. (2021) *J. Biosci Bioeng.* Jan;131(1):68-76
- The *Escherichia coli* CitT transporter can be used as a succinate exporter for succinate production. Sousuke Takahashi, Mayu Miyachi, Hisanori Tamaki, Hideyuki Suzuki. (2021) *Biosci. Biotech. Biochem.*, 85(4) 981-988
- 麹菌菌種の違いが芋焼酎の香味形成に及ぼす影響(第1報)酵素活性と芋焼酎醪の差異. 白石洋平, 竹浦滯, 奥津果優, 吉崎由美子, 二神泰基, 玉置尚徳, 和久豊, 高峯和則.(2021) 日本醸造学会誌 116 : 39-48
- 麹菌菌種の違いが芋焼酎の香味形成に及ぼす影響(第2報)香気成分と官能評価での差異. 白石洋平, 奥津果優, 吉崎由美子, 二神泰基, 玉置尚徳, 和久豊, 高峯和則.(2021) 日本醸造学会誌 116 : 49-58
- Impact of fermentation temperature on the quality and sensory characteristics of imo-shochu., Genqiao Liu, Juna Serikawa, Kayu Okutsu, Yumiko Yosizaki, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine. (2021) *J. Inst. Brew.* 127 : 417-423
- Additional moisture during koji preparation contributes to the pigment production of red koji (Monascus-fermented rice) by influencing gene expression. Chuantao Zeng, Yumiko Yosizaki, Xuan Yin, Zitai Wang, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine. (2021) *J. Food Sci.* 86(3):969-976.
- The expression profiles of acid-stable alpha-amylase and acid-labile alpha-amylase of *Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii*. Chuantao Zeng, Yuki Tagawa, Yumiko Yosizaki, Tiantian Wang, Masaaki Yamaguuchi, Chihiro Kadooka, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine. (2021) *LWT - Food Science and Technology* 139 : 110580
- Impact of solid-state saccharification on the flavor of rice-flavor baijiu., Zhe Zhao, Mina Sugimachi, Yumiko Yosizaki, Xuan Yin, Xing-Lin Han, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine. (2021) *J. Food Sci.* 86: 4958-4968.
- Correlation between key aroma and manufacturing processes of rice-flavor baijiu and awamori, Chinese and Japanese traditional liquors., Zhe Zhao, Mina Sugimachi, Yumiko Yosizaki, Xuan Yin, Xing-Lin Han, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine. (2021) *Food Bioscience* 44 : 101375
- サトイモ焼酎の香味特性と焼酎粕の機能性. 曾伝濤, 劉夢迪, 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則.(2022) 日本醸造学会誌 117(10),701-711.
- サツマイモ固体糖化後仕込みによる芋焼酎製造の可能性. 劉根僑, 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則.(2022) 日本醸造学会誌 117(10),712-723.

- Chromosome-level genome sequence data and analysis of the white koji fungus, *Aspergillus luchuensis* mut. kawachii IFO 4308., Mori K, Kadooka C, Oda K, Okutsu K, Yoshizaki Y, Takamine K, Tashiro K, Goto M, Tamaki H, Futagami T. *Data Brief*. 41:107888. 2022
- Essential roles of phosphatidylinositol 4-phosphate phosphatases Sac1p and Sjl3p in yeast autophagosome formation. Moe Muramoto, Yuki Yamakuchi, Rikako Konishi, Shimoi Koudatsu, Hiromu Tomikura, Kayoko Fukuda, Sayuri Kuriyama, Yuna Kurokawa, Tatsunori Masatani, Hisanori Tamaki, Akikazu Fujita. (2022) *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* Sep;1867(9):159184
- Factors that cause replacement of shochu yeast by wild yeast upon Sashi-moto repetition., Li B, Yoshizaki Y, Okutsu K, Haruyama Y, Sato Y, Futagami T, Tamaki H, Takamine K. *J Biosci Bioeng*. 134(4):326-330. 2022
- Effects of microbial fermentation on enzyme activity and volatile properties of Massa Medicata Fermentata., Zitai Wang, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Takuro Maruyama, Kazufumi Toume, Katsuko Komatsu, Fumio Hashimoto, Kazunori Takamine. (2022) *Traditional & Kampo Medicine* 9 : 10-17
- Efficient gene targeting in *Aspergillus chevalieri* used to produce katsuobushi., Kentaro Hiramatsu, Atsushi Nishitani, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami. (2022) *Biosci. Biotech. Biochem*. 87:672-682.
- Shochu koji microstructure and starch structure during preparation., Tiantian Wang, Isao Hanashiro, Yumiko Yoshizaki, Yuki Kobashi, Suzuka Noda, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine. (2023) *J. Applied Glycoscience* 70 : 109-117
- Expression of heterochromatin protein 1 affects citric acid production in *Aspergillus luchuensis* mut. kawachii., Atsushi Nishitani, Kentaro Hiramatsu, Chihiro Kadooka, Kazuki Mori, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Kosuke Tashiro, Masatoshi Goto, Hisanori Tamaki, Taiki futagami. (2023) *J. Biosci. Bioeng*. 136 : 443-451
- Homozygous gene disruption in diploid yeast through a single transformation., Yuki Kobashi, Eri Nakayama, Naoki Fukumori, Ayane Shimojima, Manami Tabira, Yuki Nishimura, Manami Mukae, Ai Muto, Naoto Nakashima, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Taiki Futagami, Kazunori Takamine, Hisanori Tamaki. (2024) *J. Biosci. Bioeng*. 137 : 31-37
- *THI3* contributes to isoamyl alcohol biosynthesis through thiamine diphosphate homeostasis., Yuki Kobashi, Yumiko Yoshizaki, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine. (2024) *J. Biosci. Bioeng*. 137 : 108-114
- Overexpression of the DHA1 family, *ChlH* and *ChlK*, leads to enhanced dicarboxylic acids production in koji fungi, *Aspergillus luchuensis* mut. kawachii and *Aspergillus oryzae*., Atsushi Nishitani, Kentaro Hiramatsu, Chihiro Kadooka, Kyoka Hiroshima, Kazutaka Sawada, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Masatoshi Goto, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami. (2024) *J. Biosci. Bioeng*.

137 : :281-289

- Deficiency of β -xylosidase activity in *Aspergillus luchuensis* mut. kawachii IFO 4308., Enkang Zhu, Kentaro Hiramatsu, Taiga Inoue, Kazuki Mori, Kosuke Tashiro, Kiyotaka Fujita, Takefumi Karashima, Hideharu Takashita, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami. (2024) *Biosci. Biotech. Biochem.* 88 : 816-823
- Overexpression of the RNA-binding protein NrdA affects global gene expression and secondary metabolism in *Aspergillus* species. Chihiro Kadooka, Kosuke Izumitsu, Teigo Asai, Kentaro Hiramatsu, Kazuki Mori, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Masatoshi Goto, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami. (2025) *mSphere* 10 : e0084924
- Diverse fungal communities in commercial karebushi produced with or without a starter culture., Kazuna Yanagi, Kentaro Hiramatsu, Chihiro Kadooka, Atsushi Nishitani, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami. (2025) *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 71, 64–67
- Impact of steamed rice moisture content on solid-state saccharification, fermentation, and flavor profile of rice-flavor baijiu., Suzuka Noda, Moka Naribayashi, Yumiko Yoshizaki, Zhao Zhe, Xuan Yin, Xing-Lin Han, Atsushi Nishitani, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine. (2026) *Food Science and Technology Research* 32 (1), 71-80

【著書】

- 酵母のすべて (2007). 共著, pp.169-174 シュプリンガー・ジャパン.
- 遺伝子から見た応用微生物学. (2008) 共著, pp.88-95 朝倉書店

【特許】

- 玉置尚徳, 二神泰基 : 真菌におけるタンパク質の選択的分泌技術, 特許第 6839424 号