

(前文)

酒類総合研究所では、中期計画（平成 13 年 4 月 2 日財務大臣認可）に基づき、外部有識者の意見を聞き業務運営に反映させることを目的に「研究開発評価委員会」を設けています。当委員会は研究所の特別研究課題に関する事前評価、中間評価、事後評価などを行います。評価に当たっては、「国の研究開発評価に関する大綱的指針」（平成 17 年 3 月 29 日内閣総理大臣決定）に沿って、実施しています。

平成 12 年度から平成 17 年度にかけて実施した、重点的に取り組むべき研究課題（特別研究）4 課題についての事後評価をいただきましたので、ここに公表いたします。

1 開催日

平成 18 年 6 月 16 日（金）

2 場所

独立行政法人酒類総合研究所（広島事務所） 大会議室

3 出席委員

会長 兒玉 徹

委員 大河内基夫、久保田紀久枝、小林 猛、蓼沼 誠、中島邦雄、宮川都吉

（敬称略、五十音順）

重点研究課題（特別研究）の事後評価結果の概略

平成12年度から平成17年度にかけて実施した、重点的に取り組むべき研究課題（特別研究）である、「酒類原料の醸造適性要因の解明」、「麹菌が環境条件に対応して特異的に発現する遺伝子及びその制御機構の解明」、「醸造用酵母の醸造特性の発現に関与する遺伝子の解明及び利用」及び「醸造関連微生物の生産する酵素の新規機能解明及び利用」について、事後評価を行った。

各課題の事後評価結果は次のとおりであり、研究計画どおり、あるいはそれ以上の成果を得ていたものと評価した。

重点課題（特別研究）の事後評価結果

1 研究課題名

酒類原料の醸造適性要因の解明

2 研究概要

A 酒造用原料米の醸造適性要因の解明

酒造用原料米の重要な評価指標である心白等の米胚乳構造について、清酒醸造との関係を解析するとともに、米胚乳の主要構成成分であり醸造適性に大きく関与すると考えられるデンプンの分子構造と清酒醸造との関係を解析した。また、米胚乳細胞中の糖化関連酵素について、糠酒糖化機構への関与等の意義、 α -グルコシダーゼの諸性質、米登熟中の糖化関連酵素の挙動、醸造適性に与える影響などを解明した。

B ブドウの醸造適性関連 2 次代謝産物の生成機構及びその機能の解明

ワイン用原料ブドウの品種特徴香成分の一つであるメトキシピラジン生成の最終段階に関与する前駆体及び酵素について解明した。また、光や植物ホルモンが赤ワイン用ブドウ果皮のアントシアニン化合物等の蓄積に及ぼす影響及びアントシアニン合成系遺伝子の mRNA の蓄積に及ぼす影響を明らかにするとともに、ブドウでは未報告のフラボノイド合成に関与する遺伝子を明らかにし、これらの転写パターン及びアントシアニン合成系の調節機構についても検討した。

3 主な成果

A 酒造用原料米の醸造適性要因の解明

心白構造を持つ胚乳変異体米、山田錦等を試料とし、心白の形状や胚乳細胞構造の観察、酒造適性分析、熱分析、清酒試験醸造を行い、胚乳中心部の扁平な細胞の配列構造が吸水性に深く関与すること、米の特徴的な胚乳構造が酵素消化性に強く関係することなどを明らかにした。

酒造原料米のアミロペクチン側鎖構造と酒造適性について検討し、デンプン変異体米では、アミロース含量及びアミロペクチンの側鎖構造の違いで説明できるデンプンの老化性の差異が、これら蒸米の酵素消化性に決定的な影響を及ぼしていることを明らかにした。実用品種では、アミロース含量には老化に影響を及ぼす程の差が見られず、アミロペクチンの短鎖/長鎖比によってデンプンの老化性及び酵素消化性を説明できることが明らかとなった。以上から、実用品種のアミロペクチンの構造解析により、デンプンの老化と密接に関連を持つ蒸米の溶解性が予測できることを明らかにした。

糠酒のアルコール発酵に必須であるデンプンの糖化が、米胚乳に存在し精米後に白糠に残存する α -グルコシダーゼによることを、米白糠から当該酵素を精製し、酒造工程のモデル発酵試験によって証明した。糠酒を発展させた無蒸煮白糠を留仕込みに添加するパイロットスケールの清酒醸造実地試験を行い、その有効性を明らかにした。さらに、伝説の「口噛みの酒」の原料が生米でなければならない理由、糖化関連酵素と酒類醸造との関係、米登熟中の当該酵素の挙動などを明らかにした。

B ブドウの醸造適性関連 2 次代謝産物の生成機構及びその機能の解明

ワイン用原料ブドウの香気成分メトキシピラジン類が、これまで生物界に存在が知られていなか

ったヒドロキシピラジンを前駆体としO-メチル基転移酵素により生成されること、前駆体と酵素活性のレベルによってブドウのメトキシピラジン類レベルが説明できることを明らかにした。

アントシアニン、カテキン類並びにフラボノールに関しては、その蓄積部位、時期及び植物ホルモンや遮光の影響が異なり、これらの成分が生合成経路の大部分を共有しているにも関わらず、各成分の生合成は異なる制御を受けていることを明らかにした。また、これらの成分の生合成に関与する遺伝子を単離・解析した。各生合成遺伝子の mRNA の蓄積は成分の蓄積と時期が一致し、遺伝子の転写がこれらの成分の蓄積の制御因子の少なくとも一つであることを示した。

アントシアニンの生合成については、その制御因子である Myb 様遺伝子の転写が遮光や植物ホルモンで制御され、その結果、アントシアニン合成系遺伝子全体の転写が制御されていると推察した。

この他、各生合成遺伝子の器官特異的発現や、生合成系上流の遺伝子の特異的な発現についても知見を得た。

4 評価結果

本研究で目指した目標を達成でき、大きな貢献を果たしたと評価される

本研究で目指した目標を達成できない部分もあったが、貢献を果たしたと評価される

必ずしも十分でなかったが、研究への取り組みは評価される

研究への取り組みは不十分であった

5 総合所見

2つのサブテーマとも計画以上の成果が得られている。

酒造原料米については、細胞レベル・分子レベルでの研究が進展し、胚乳中心部の細胞の配列構造と吸水性の関係、実用品種でのアミロペクチンの短鎖/長鎖比とデンプン老化性、酵素消化性との関係を明らかにして、酒造好適米育種への指標を示し、多くの知見が得られた点は注目される。

また、胚乳細胞中の糖化関連酵素の役割を明らかにしたことは、糠利用への展望を開いたものと所見される。

原料ブドウの特性等の解明については、ブドウ品種の特徴香成分であるメトキシピラジンの生成系を分子レベルで明らかにしたことは学術的に価値がある。また、ブドウの複雑なアントシアニン等色素生合成への諸因子の影響をかなり明らかにしたことは、今後のブドウ栽培に貢献する成果であると考えられる。

論文発表や普及への努力は十分行われたが、特許取得に至らなかったのは残念である。

今後は、得られた研究成果の実用化及び一層の成果の普及を期待するとともに、特許化の可能性のある成果があれば、特許化するなどの検討をしていただきたい。

1 研究課題名

麴菌が環境条件に対応して特異的に発現する遺伝子及びその制御機構の解明

2 研究概要

A 黄麴菌のゲノム解読及びその利用

麴菌 EST 解析プロジェクトデータに加え、独自の EST データを蓄積するとともに、全 EST データをデータベース化し公開した。さらに、有用遺伝子を単離・解析するとともに、3,000EST クローンを搭載した cDNA マイクロアレイの開発を行った。

また、当研究所の麴菌 RIB40 株を対象とした麴菌ゲノム解析コンソーシアムによるゲノム解析に参画した。

麴菌の安全性に係わる *A. oryzae* RIB40 株のアフラトキシン (AF) 生合成系遺伝子クラスターの塩基配列約 40kb を解読し、その発現が見られないこと、研究所保存菌株の約 4 割は AF クラスターを半分以上欠損していることを明らかにした。

B 麴菌の固体培養時に特有な諸形質の発現に関する分子機構の解明及びその利用

固体培養特異的な 49 遺伝子 (AOS) 及び液体培養時特異的な 9 遺伝子 (AOL) を取得するとともに、プロモーターアッセイにより AOS 遺伝子群が高温や低水分活性条件などのストレス条件により誘導されることを確認した。さらに、AOS2 遺伝子の詳細な発現解析から、発現抑制等に関与する領域を見いだした。

また、固体培養における cDNA マイクロアレイ発現解析を行い、麴菌の遺伝子の変動パターンを解析するとともにデータベースとして整備した。さらに、全ゲノム解析結果を活用した麴菌全遺伝子搭載カスタムアレイの開発を行った。

3 主な成果

A 黄麴菌のゲノム解読及びその利用

麴菌の EST 解析に関しては、麴菌 EST 解析プロジェクトデータに加え独自に米麴等を材料としたデータを蓄積するとともに、新規 EST 配列 1,041 個を見だし特許申請した。これら麴菌 RIB40 株の計 7,714 の EST データは、データベース化しホームページで公開した。また、EST クローンは、要望に応じて分譲したほか、3,000 クローンを搭載した cDNA マイクロアレイを作製し研究手段に用いるとともに、麴菌研究者に提供 (8 研究グループへ提供) し、麴菌研究の基盤として機能した。さらに、共同研究により麴菌有用形質に関わる 10 遺伝子を解析し、特許申請した。

麴菌の全ゲノム解析については、当研究所の麴菌 RIB40 株を対象とした (独) 製品評価技術基盤機構と麴菌ゲノム解析コンソーシアムの共同研究によるゲノム解析に参加し、解析結果をネイチャーに論文として発表した。

これらの成果を踏まえて、麴菌の安全性に係わる *A. oryzae* RIB40 株のアフラトキシン (AF) 生合成系遺伝子クラスターの塩基配列約 40kb を解読した。その結果、その構造は AF 生産菌と高い相同性を示したが、RT-PCR により AF 生産条件における発現が見られず、麴菌 AF クラスターが機能していないことを確認するとともに、研究所の保存菌株を解析し、その約 4 割は AF クラスターを半分以上欠損していることを明らかにした。また、この欠損は、染色体テロメア付近の分断と修復によるものと考えられた。さらに、これらの菌株の簡易判別同定法を開発し、特許申請した。

B 麴菌の固体培養時に特有な諸形質の発現に関する分子機構の解明及びその利用

サブトラクション法（比較法）により固体培養特異的に発現している 49 遺伝子 (A0S) と、液体培養時に特異的に発現している 9 遺伝子 (A0L) を取得した。うち 8 遺伝子のプロモーターアッセイにより A0S 遺伝子群が高温や低水分活性条件などのストレス条件に応答していたことから、これらのストレスが固体培養としてのシグナルとなっているものと考えられた。さらに、A0S2 遺伝子の詳細な発現解析から、発現に必須の領域や発現抑制等に関与する領域を見いだした。また、新規な 1,2- α -マンノシダーゼ遺伝子、トレハロース合成酵素遺伝子及びグルタミナーゼ酵素遺伝子を見だし解析するとともに 12 遺伝子の特許申請した。

さらに、固体培養時（ふすま培養、米麴培養、醤油麴培養）における cDNA マイクロアレイ遺伝子発現解析を行い、麴菌遺伝子の発現変動パターンから、遺伝子発現に大きな変局点が存在することを見いだした。また、得られた発現情報をデータベース化し、研究基盤情報として整備しその有用性を実証した。さらに、より広汎な遺伝子発現解析を行うために、ゲノム解析結果を活用し全遺伝子を登載した麴菌カスタムアレイ（ジーンチップ）の開発を行った。本アレイには、遺伝子発現制御に関わるプロモーター部位も搭載されており、麴菌の全遺伝子発現解析のみならず、染色体構造の変化などによる遺伝子発現の変動なども解析可能となった。

4 評価結果

■本研究で目指した目標を達成でき、大きな貢献を果たしたと評価される

□本研究で目指した目標を達成できない部分もあったが、貢献を果たしたと評価される

□必ずしも十分でなかったが、研究への取り組みは評価される

□研究への取り組みは不十分であった

5 総合所見

中期計画水準を着実にクリアしたと評価できる。

共同研究による麴菌全ゲノム解明プロジェクトの中で中心的な役割を演じてきたことは評価すべきである。ゲノム解析の結果は酒造業界のみならず、広汎な麴菌の利用工業の今後の発展に大きく寄与する基盤的成果である。

また、アフラトキシン遺伝子の解析を通じて、広く醸造に用いられているアスペルギルス属菌のアフラトキシン非生産性が科学的に証明されたことは、社会に安心感を与え、我が国の産業への貢献度が高いものと所見される。

麴菌のカスタムアレイを作製し、さらに麴菌遺伝子の詳細な解析を可能としたことなど、他の研究に資する努力も評価できる。さらに、伝統的な固体培養法が有する特徴的な遺伝子発現についての解析結果は、タンパク生産等に活用できる可能性を秘めており、価値が高いものと考えられる。

多数の特許出願を行っているが、麴菌がわが国の代表的な微生物であることから、国益維持のために重要であったと考えられる。成果公開も計画を上回っている。今後の研究の進展に期待したい。

1 研究課題名

醸造用酵母の醸造特性の発現に関与する遺伝子の解明及び利用

2 研究概要

A 高泡形成能に関与する遺伝子の解明及び利用

清酒酵母の高泡形成は AWA1 遺伝子に起因すること及び遺伝子中の高泡形成に必要な部分を解明した。この結果を利用し、新規な泡なし酵母を育種する方法を開発した。AWA1 遺伝子の長さは清酒酵母の菌株間で多様性が存在することから、PCR 法を用いた AWA1 遺伝子の長さを比較することで清酒酵母の菌株の同定法を開発した。

B アルコール耐性に関与する遺伝子の解明及び利用

アルコール耐性酵母きょうかい 11 号のアルコール耐性のメカニズムを解明した。この結果を利用して、新規なアルコール耐性酵母の育種方法を開発した。

高アルコールの存在、静置培養などの清酒醸造条件で高発現するベクターを構築する目的で、アルコール存在下で誘導される遺伝子 TDH1 を見出し、このプロモーターを利用した染色体組込み型ベクター pAURKTDH1 を構築した。このベクターによる異種タンパク質等の清酒酵母での生産を実施した。

C 低温での増殖に関与する遺伝子の解明及び利用

DNA マイクロアレイを用いて、清酒酵母の 10°C 及び 30°C での遺伝子発現を比較し、低温培養で高発現する遺伝子を明らかにした。また、遺伝子破壊ライブラリーから、低温での増殖率の高い破壊株の選抜を行ったが、当研究は、他の 2 つのサブテーマに研究資源を集約化するため平成 14 年度で終了した。

3 主な成果

A 高泡形成能に関与する遺伝子の解明及び利用

泡なし変異株きょうかい 701 号 (K701) から高泡形成遺伝子 AWA1 をクローニングして構造を解析した結果、K701 の泡なしの原因は、染色体の非相互転座に伴い、AWA1 遺伝子の一部が欠失したためであることがわかった。次に、K7-AWA1 の様々な部分を欠失させた変異体を作成し、高泡形成への影響を解析した結果、AWA1 遺伝子中の高泡形成に必要な部分を同定した。また、AWA1 遺伝子の発現調節について解析した結果、清酒酵母の AWA1 の発現は強く、実験室酵母の Y0L155C の発現は弱いことがわかった。

得られた研究結果を基に、AWA1 遺伝子の長さの多様性を利用した清酒酵母の菌株同定法を開発した。また、清酒酵母の染色体上の AWA1 から高泡形成に必要な部分を取り除く新規な泡なし酵母を育種する方法を開発した。

B アルコール耐性に関与する遺伝子の解明及び利用

(アルコール耐性酵母きょうかい 11 号のアルコール耐性のメカニズム)

高濃度アルコールの存在下でも死滅しにくい酵母であるアルコール耐性清酒酵母きょうかい 11 号 (K11) ではストレス誘導遺伝子がストレスなしでも高発現していることがわかった。その原因として、これらの遺伝子のプロモーターに存在する cis 因子による転写が活性化しているためであることを明らかにした。また、多数の遺伝子破壊株の混合物である遺伝子破壊ライブラリーの中からアルコール存在下で増殖率の高い株及び死滅率の低い株の選抜を行った。

得られた結果を基に、新規なアルコール耐性酵母の育種方法を開発した。

(アルコール存在下で誘導される遺伝子プロモーターの利用関係)

アルコール存在、静置条件で高発現する清酒酵母遺伝子として TDH1 を見出した。清酒酵母の TDH1 遺伝子のプロモーター部分を利用して、オーレオバシジン耐性を選択マーカーとする染色体組込み型ベクター-pAURKTDH1 を構築した。 β -グルクロニダーゼ(GUS)をレポーター遺伝子として、アルコール存在、静置、濃糖など醸造環境に類する条件における活性を解析した結果、これらいずれの条件においても GUS が強く発現し、さらに清酒酵母を宿主とすることでより強い発現が行えることを明らかにした。このベクターに S-アデノシルメチオニン(SAM)合成酵素 SAM1 及び SAM2 遺伝子を挿入し、清酒酵母 K9 に導入した。その結果、その形質転換株は親株と比較し約 1.3 倍の SAM 量を蓄積した。

C 低温での増殖に関与する遺伝子の解明及び利用

DNA マイクロアレイを用いて、清酒酵母の 10°C 及び 30°C での遺伝子発現を比較し、低温培養で高発現する遺伝子を明らかにした。また、遺伝子破壊ライブラリーから、低温での増殖率の高い破壊株の選抜を行った。

4 評価結果

■本研究で目指した目標を達成でき、大きな貢献を果たしたと評価される

□本研究で目指した目標を達成できない部分もあったが、貢献を果たしたと評価される

□必ずしも十分でなかったが、研究への取り組みは評価される

□研究への取り組みは不十分であった

5 総合所見

低温耐性に関する課題を一定の成果を得た上で終了し、他の 2 課題に集中したことにより、高泡形成及びアルコール耐性遺伝子の解明が効率的に進んだものと所見される。

清酒酵母が遺伝子レベルで実験室酵母と大きく異なっていることが明らかにされ、清酒酵母を材料にした研究の意義が明確になった。

結果として AWA1 利用した清酒酵母の固定法、泡なし酵母の育種法が開発され、有用酵母の育種に大きく寄与する成果を示したものと考えられる。

また、効率的なアルコール耐性酵母の育種法も開発されたが、この応用成果は酒造業界に止まらず、産業界における効率的なアルコール生産への応用等も期待されるテーマである。

ただし、知的財産権取得の努力はやや不十分である。その可能性があるものについては、今後検討していただきたい。

1 研究課題名

醸造関連微生物の生産する酵素の新規機能解明及び利用

2 研究概要

A 穀類細胞壁分解酵素の醸造における機能解明

清酒及び焼酎麹菌が生産する穀類細胞壁分解酵素の醸造における機能を解明するため、当該酵素を単離・精製してその酵素化学的諸性質を調べるとともに、清酒及び焼酎もろみの並行複発酵等を解析した。さらに、原料利用率の向上等に資する醸造技術の開発を行った。

B 酒類の品質に関与する酵母酵素の機能解明

酒類の品質に関与するフェノール化合物代謝関連酵素、ペプチド輸送酵素等の酵母酵素の機能を解明するとともに、酒類の品質の多様化に資するため、それらの酵素の生産性が異なる新たな酵母を育種した。

C 排水処理用微生物が生産する排水処理に有用な酵素の検索、精製及びその利用

排水処理に有用な酵母の一つであるクリプトコッカス sp. S-2 の生産するリパーゼ等を精製し、それらの遺伝子をクローニングして遺伝子資源とするとともに、当該酵素の機能を解明した。

3 主な成果

A 穀類細胞壁分解酵素の醸造における機能解明

(清酒麹菌の穀類細胞壁分解酵素関係)

清酒麹菌 *A. oryzae* の固体培養物から3種のセルラーゼ (Cel1~3) 及び3種のキシラナーゼ (XynF1, XynF3, XynG2) を単離、精製し、その酵素化学的諸性質を明らかにした。これらの精製酵素を用いた小仕込試験により、清酒もろみの並行複発酵を解析し、XynG2 の添加により原料利用率が向上し、純アルコール収得量が増加することを明らかにした。次に、ポリガラクトナーゼについても同様に調べたが、単独では原料利用率の向上に寄与しなかった。さらに、原料利用率の向上に寄与することが判明した精製酵素を組み合わせた小仕込試験を行ったところ、Cel2 と XynG2 を同時に添加した場合に、純アルコール収得量及び原料利用率が最も向上することが分かった。

(焼酎白麹菌ポリガラクトナーゼ関係)

麦麹から焼酎白麹菌 *A. kawachii* が生産する3種のポリガラクトナーゼ (PGase) を単離、精製し、その酵素化学的諸性質を明らかにした。次に、PGase の酵素特性を改良するため、タンパク質工学的手法によりアミノ酸置換した変異酵素を12種調製して諸性質を調べた結果、多くの場合には酵素活性の低下が認められたが、ペクチンへの基質特異性が変化した変異酵素や耐熱性が向上したものが得られた。さらに、6種の変異酵素 (N65D、K67T、W85F、L95I、I190V 及び D268G) を用いた麦焼酎小仕込試験を行い、焼酎もろみの並行複発酵における PGase の機能を解析した。N65D、K67T 及び W85F 変異酵素は野生型酵素 (WT) と比べて発酵経過が良好となり、得られた製成酒のアルコール収得量は、酵素無添加の対照と比較し、WT が 3.4%、N65D、K67T 並びに W85F がそれぞれ 6.1、7.7 並びに 8.8% 増加した。

(焼酎白麹菌アラビノフラノシダーゼ関係)

焼酎白麹菌 *A. kawachii* のフスマ液体培養上清から2種のアラビノフラノシダーゼを精製し、その酵素化学的性質及び特性を調べた。各精製アラビノフラノシダーゼをキシラナーゼとともに

アラビノキシランに作用させるとその分解率が高まり、相乗効果が認められた。次に、当該遺伝子をクローニングし、そのアミノ酸配列を推定したところ、2種のアラビノフラノシダーゼはGHファミリー51及び54に属する糖質分解酵素であった。GH54に属する酵素を東京大学との共同研究によりX線結晶構造解析を行い、その構造と触媒機構をGH54酵素として初めて明らかにした。すなわち、N末端の触媒ドメインとC末端のアラビノース結合ドメインから成り、アラビノース結合ドメインはアラビノースを特異的に認識するレクチンタイプの新規な基質結合モジュールであることを明らかにした。また、本酵素の触媒ドメインに存在するN糖鎖の影響を解析するため、N83Q、N202Q及びN83Q/N202Q変異酵素を*Pichia pastoris*を用いて発現させ、その熱安定性を検討したところ、N83Qは野生型と同程度であったが、N202Q及びN83Q/N202Qでは熱安定性が低下し、Asn202のN型糖鎖は熱安定性に関与している可能性が示唆された。

B 酒類の品質に関与する酵母酵素の機能解明

(フェノール化合物代謝関連酵素関係)

醸造用酵母のフェルラ酸脱炭酸能を調べ、ワイン酵母の多く及びバイツェンビール酵母では脱炭酸能があり、清酒酵母、焼酎酵母及びバイツェンビール酵母以外のビール酵母では脱炭酸能がないことを明らかにした。脱炭酸反応に関与するPAD1遺伝子(フェニルアクリル酸脱炭酸酵素遺伝子)及びFDC1遺伝子(フェルラ酸脱炭酸酵素遺伝子)の配列を調べたところ、脱炭酸できない酵母ではFDC1遺伝子配列の途中で終止コドンがあることを見いだした。そこで、焼酎酵母にフェルラ酸脱炭酸能を付与するため、焼酎酵母とワイン酵母との細胞融合株を造成して焼酎小仕込試験を行ったところ、親株と比較してアルコール生成に大差はなく、焼酎中の4-VG含有量を増加させることに成功した。

(ペプチド輸送酵素関係)

清酒酵母のペプチド輸送酵素遺伝子(PTR2)の機能を解明するため、ペプチド輸送能欠損株を分離し、その醸造特性を検討した。分子内にアミド結合を有するBlasticidinS(以下BSとする。)に対する耐性酵母は、ペプチド輸送能が欠損しており、実験室酵母のΔPTR2株はBS耐性であった。BS耐性株にPTR2遺伝子を導入すると、BS感受性及びペプチド輸送能が回復することを明らかにした。また、ペプチド輸送能欠損酵母による清酒小仕込試験の結果、製成酒のアミノ酸度は減少し、酸度は上昇した。これらのことから、ペプチド輸送酵素の改変により清酒の酸度及びアミノ酸度制御の可能性が示唆された。PTR2遺伝子の利用について、本遺伝子はペプチド輸送能欠損酵母を宿主とする形質転換系に利用可能であり、PTR2遺伝子のプロモーターは解糖系のADH2プロモーターと遜色ないタンパク質発現が可能であることを明らかにした。

C 排水処理用微生物が生産する排水処理に有用な酵素の検索、精製及びその利用

排水処理用として分離された酵母クリプトコッカス sp. S-2は、さまざまな特徴ある酵素を分泌生産する。難分解性多糖類の分解酵素として生澱粉分解性アミラーゼ及び耐酸性キシラーゼの遺伝子が同定されており、本研究においても耐熱性セルラーゼやポリガラクトソナーゼ遺伝子のクローニングに成功している。また、油脂分解酵素(リパーゼGS)については合成、分解ともに環境保全利用に関わるユニークな性質を示すことを明らかにした。合成反応では、廃油や米糠油からバイोजーゼ(脂肪酸エステル)を効率よく生産でき、分解反応では、酵素的分解が困難なポリ乳酸プラスチック等の各種生分解性プラスチックを分解する能力が強いことを明らかにした。リパーゼGSについては、その遺伝子のクローニング、大腸菌などを用いた組換え酵素

の生産と機能解析、さらに立体構造解析等の機能解明について詳細な研究を行った。クローニングした遺伝子から推定されるアミノ酸配列をデータベース上の既知の配列と比較したところ、20%以上の相同性を示すタンパク質の存在は認められず、ユニークな配列を有していることが分かった。立体構造解析より当初リパーゼとして同定した本酵素は、構造上はクチナーゼやアセチルキシランエステラーゼと似ていたが、既知のクチナーゼと比べてプラスチック分解能や脂肪酸エステル基質の基質特異性に違いが見られ、本酵素の新規性が明らかになった。

なお、得られた遺伝子資源については、他にはない性質を持つ酵素の産業利用について、民間企業と協力し推進した。

4 評価結果

■本研究で目指した目標を達成でき、大きな貢献を果たしたと評価される

□本研究で目指した目標を達成できない部分もあったが、貢献を果たしたと評価される

□必ずしも十分でなかったが、研究への取り組みは評価される

□研究への取り組みは不十分であった

5 総合所見

酒類製造に関する多様な微生物酵素について広く研究を進めた点は評価できる。清酒及び焼酎麹菌由来の細胞壁分解酵素に関する知見が得られ、それらによる原料利用率向上の可能性が示されたことは意義がある。アルコール収得率上昇では見るべき成果が得られているが、清酒の品質への影響は今後の課題であると考えられる。

排水処理用微生物については、クリプトコッカス菌に特化してユニークな酵素のキャラクタリゼーションに成功している。この成果は、産官連携によりさらに発展することが期待されるとともに、酒類業界のみならず、広く社会、経済的にもインパクトを与える成果と思われる。なお、諸反応に関わる特許出願も活発に行われている。

総じて、テーマが多岐に渡っていたため、まとまったインパクトには欠けているようにも考えられたこと、成果の公表が不十分なサブテーマもあったが、一方、得られた成果はそれぞれ明解なものになっていた。また、全てのテーマで実用化の目途が立っているものと所見されるので、民間企業等との協力関係を深めるなど、広い意味で醸造技術の高度化に資するよう期待したい。