

清酒酵母のなぞを探る

醸造技術基盤研究部門 下飯 仁

1. はじめに

清酒酵母は、発酵によってアルコールを生成するばかりでなく、有機酸や高級アルコールとそのエステルなどを生成することで清酒の品質に大きな影響を与えている。清酒酵母は、分類学的には *Saccharomyces cerevisiae* に属しているが、清酒醸造において高濃度のアルコールを生産するなど実験室酵母や他の醸造用酵母とは異なる性質を数多くもっている。これらの醸造特性の差異は、最終的には遺伝子の構造の違いに起因すると考えられるが、詳細は明らかになっていない。当研究所は、清酒酵母の特性を遺伝子レベルで明らかにする目的で産官学のメンバーから構成される清酒酵母ゲノム解析コンソーシアムを組織し、独立行政法人製品評価技術基盤機構との共同研究で清酒酵母きょうかい7号のゲノム解析を行った。その結果、きょうかい7号のゲノムはすでにゲノム解析が終了している実験室酵母のゲノムと96%が同じであることがわかった。これは、残りの4%の違いの中に清酒酵母の特徴が隠されていることを示している。今回は、ゲノム解析を含めた最近の研究から明らかになった清酒酵母の意外な性質について紹介したい。

2. きょうかい酵母は皆兄弟？

きょうかい7号のゲノムを実験室酵母のゲノムと詳しく比較すると、きょうかい7号には存在するが実験室酵母には存在しない遺伝子、逆に実験室酵母には存在するがきょうかい7号には存在しない遺伝子が多数見つかった。たとえば、清酒もろみの高泡形成に必要な遺伝子である *AWA1* は清酒酵母にのみ存在し、実験室酵母には存在しない。逆に、構成的酸性フォスファターゼ遺伝子 *PHO3* は実験室酵母のみに存在していた。また、両酵母で染色体中の配列が逆転している部位（逆位）が2箇所見出された（図1）。

このようなゲノム構造上の特徴が他の清酒酵母や醸造用酵母でどのようになっているのかを調べたところ、様々な清酒酵母のゲノム構造は互いに似ており、他の酵母とは異なる独自のグループを形成していることが再確認された。特に、現在よく使用されている優良清酒酵母であるきょうかい6、7、9、10号は互いに識別困難なほど似ていることがわかった。現在、次世代型シーケンサーを用いてきょうかい6、7、9、10号のゲノム解析を行っているが、予備的な解析からも、これらの酵母のゲノム配列がきわめて類似しているという結果が得られている。これらの酵母は同一の親株に由来する兄弟である可能性が高いと考えられる。しかし、きょうかい6、7、9、10号はいずれも異なる酒造場から分離された酵母であり、それぞれ独特の個性を持っている。きょうかい酵母の個性がどのような遺伝子レベルでの変化によってもたらされたのかは依然として大きななぞである。

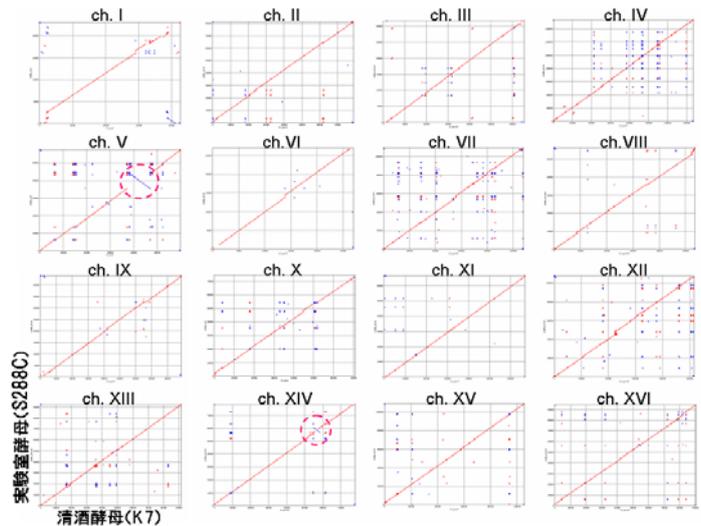


図1 きょうかい7号と実験室酵母の染色体の比較
清酒酵母のゲノムと実験室酵母のゲノムはよく似ている。赤丸で囲んだ部分は逆位。

3. トンビがタカを産む？

きょうかい7号は二倍体の酵母であるので、同じ構造の染色体が2本ある（相同染色体）。ゲノム解析の結果、きょうかい7号の相同染色体間にはかなりの数の塩基の不一致があることがわかった。二倍体の酵母は孢子形成を行うと減数分裂を起こして一倍体をつくることができる。その際、相同染色体の間で染色体の組換えが生じるため、一倍体では多数の相同染色体間の塩基の不一致がランダムに組み合わせられ、一つとして同じ一倍体株はできないことになる。実際に、きょうかい7号から孢子形成により100株の一倍体を分離して清酒小仕込試験を行うと、一倍体は多様な醸造特性を示した。たとえば、図2は酢酸イソアミルの生成量を示しているが、菌株ごとに生成量は異なっており、中には親株であるきょうかい7号より2倍以上高濃度の酢酸イソアミルを生成する株もあった。孢子形成によって一倍体を取得することで、清酒酵母の2本の相同染色体の中から都合の良い遺伝子だけを組み合わせ、優れた清酒酵母を作ることが可能である。

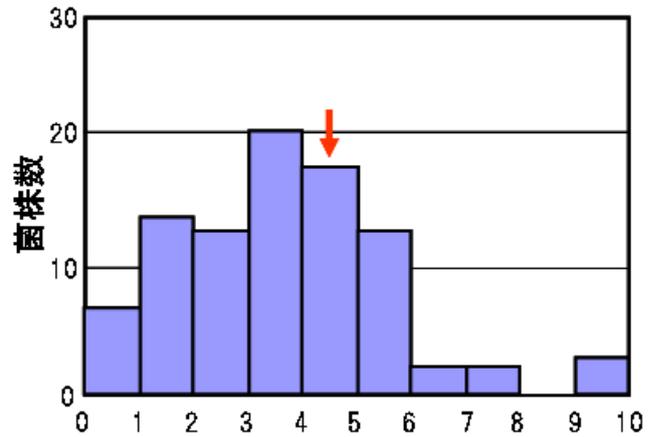


図2 きょうかい7号一倍体の酢酸イソアミル生成量 (ppm) の分布 矢印は親株のきょうかい7号

4. 清酒酵母はアルコールに弱い？

清酒は醸造酒の中で最も高いアルコール濃度であるので、清酒酵母は他の酵母に比べてアルコール耐性が強いと考えられてきた。しかし、本当にそうであろうか？アルコール耐性についてはいろいろな測定法があるが、一般には酵母をアルコール溶液にさらした後の生存率で測定する。実験室酵母は、清酒もろみできょうかい7号より低い濃度のアルコールしか生産しないが、この方法で測定した液体培養酵母のアルコール耐性は両菌株でそれほど変わらない。では、もろみ中の酵母はどうだろうか。驚いたことに、きょうかい7号の方がアルコール耐性が低いのである。もろみ中の酵母はアルコール濃度が高くなると増殖を停止する。実験室酵母は、このときアルコール耐性の休止細胞となりアルコール発酵力も弱くなる。一方、きょうかい7号は、増殖が停止してもアルコール耐性の休止細胞とはならずアルコール発酵を続け、最後には死滅してしまう。これは、自然界の酵母にとっては必ずしも生存に有利な性質ではないが、長い醸造の歴史の中でそのような性質を持つ酵母が選択されてきたのであろう。アルコール耐性の違いの原因となる遺伝子については現在解析中である。

5. まとめ

ゲノム解析とそれを用いた様々な解析によって清酒酵母の特徴が遺伝子レベルでわかってくるようになった。しかし、まだまだ多くのなぞが残っている。たとえば、同じ酵母を使っても年によって醸造特性が違っていることがある。こうした違いもやはり遺伝子レベルの変化が原因であると考えられるが、従来はそのメカニズムを解析する手段がなかった。ゲノム解析技術の進歩は、こうした菌株のバリエーションなどもゲノムレベルで考察することを可能にする。今後は、ゲノム解析結果を有効に利用して、優良清酒酵母の育種に役立てたい。

6. 参考文献

下飯 仁, 藤田信之: 清酒酵母ゲノム解析の現状と今後の応用, 化学と生物, **45**, 539-543 (2007)