

優良清酒酵母からの新規尿素非生産性株の育種

醸造技術基盤研究部門 五島 徹也

1. はじめに

近年、酒類に含まれるカルバミン酸エチルについて、食の安全性に関する視点から関心がもたれています。清酒醸造の場合、酒類中の尿素とエタノールが化学反応することが、カルバミン酸エチルの主な発生原因であり、火入れや貯蔵といった工程でカルバミン酸エチルの生成量が増加することが報告されています。清酒中の尿素の多くは酵母のアルギニン代謝によって生成されるものであることから、カルバミン酸エチルの低減策の一つとして、アルギナーゼに異常がある変異株のみが生育する選択分離用培地による尿素非生産性酵母の育種方法が開発されています。

2. 解決すべき内容

醸造現場で使用されている清酒酵母から尿素非生産性菌株の育種が行われているものの、尿素非生産性の株の取得は効率が悪いことが経験的に知られており、実用化されている菌株は非常に限られています。一方で、菌株ごとの醸造特性は大幅に異なるため、清酒醸造においては目的の酒質に適した菌株が使用されることから、多様な酒質へ対応するために様々な系統の尿素非生産性菌株が望まれています。

今回の育種では、醸造産業において製品の品質や安全性の向上の点から重要であり、発酵微生物の同定・識別技術（トレーサビリティ）にも活用できることから、遺伝子マーカーとしてアルギナーゼ遺伝子 *CARI* に変異を有する尿素非生産性清酒酵母の網羅的単離を目的としました。

3. きょうかい酵母からの尿素非生産株の取得

日本醸造協会から頒布されている、きょうかい酵母全系統（18 菌株）から、北本らの開発したアルギナーゼ活性の欠失を指標とするスクリーニング方法を用いて、自然突然変異による新しい尿素非生産性酵母菌株の選抜を行い、清酒小仕込み試験により醸造特性を調べました（図 1 A）。その結果、使用した全ての菌株から 1 株以上の尿素非生産性株を取得することが出来ました（図 1 B）。現在も小仕込み試験により醸造特性を評価している最中ですが、K1401、K1501、K1601 および K1701 については、尿素非生産性を有するが、エタノール、酸・アミノ酸、香气成分組成などの醸造特性が親株と比べて、変化が少ない、目的の菌株を取得することが出来ました。



図 1 尿素非生産株のスクリーニングの概略と取得状況

また、平成 26 年 5 月から、きょうかい酵母 1901 号 (KArg1901) として、K1801 を親株とする尿素非生産性清酒酵母が頒布されています。しかし、KArg1901 は、変異処理を行った結果、K1801 よりもカブロン酸エチルの生成が抑えられ、酢酸イソアミルが高生産となるなど、醸造特性が変化しています。今回のスクリーニングでは、K1801 を親株として、変異処理を行わない新たな尿素非生産性酵母菌株を選抜し、他の菌株と比べ、非常に効率が悪かったものの、セルレニンかつカナバニン耐性を有する尿素非生産性株 1 株を取得することが出来ました (図 1B 及び 2)。

これらの取得した株については *CARI* 遺伝子に菌株特異的な変異が存在するため、菌株判別も可能であることがわかりました。

4. 酸生成の多い清酒酵母 KT901 の新たな醸造特性

KT901 は、K901 から自然変異により育種された菌株で、リンゴ酸やコハク酸など酸生成の多い清酒酵母として報告されています。今回、網羅的なスクリーニングを実施した結果、KT901 はもともとアルギナーゼ活性を欠失した系統であり、尿素非生産性を獲得しているという、これまで知られていなかった醸造特性を明らかとすることが出来ました。また、余談ではありますが、KT901 はアルコールなどの環境ストレスに対する耐性も高く、もろみ末期まで発酵が継続できる、発酵力の高い菌株であることがわかりました。

5. おわりに

清酒や焼酎をはじめとする日本産酒類の輸出促進は、清酒業界のみならず日本経済にとっても重点課題となっており、日本酒の安全性を確保することは極めて重要だと考えられます。これまでに尿素非生産性の変異株が育種されていない系統において変異株を取得することで、様々な酒質へ対応可能となり、尿素非生産性へのニーズに対してより幅広く応えることが出来ると考えられます。また、広範な系統の菌株を用いた網羅的な検討を通じて、育種の困難さ、尿素非生産性と醸造特性の関連性などに関する理解がさらに進むことも期待しています。研究は引き続き行っており、今後は、尿素非生産性と醸造特性の確認を進め、実用化に向けた検討を進めていく予定です。

本研究は日本酒造組合中央会との共同研究として実施しました。

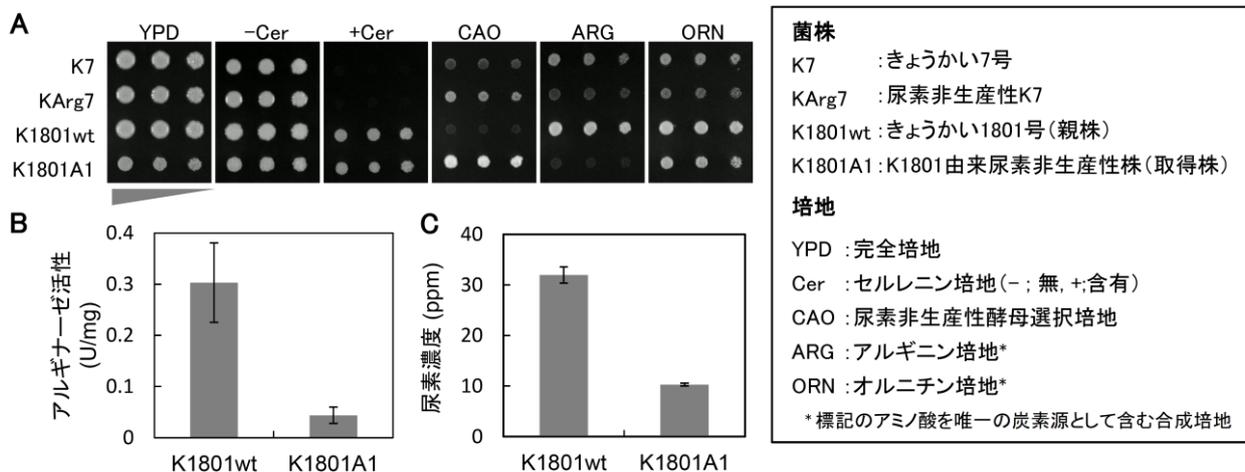


図 2 K1801 由来尿素非生産性株の特性