

(前文)

酒類総合研究所では、中期計画（平成 18 年 3 月 31 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、事後評価等を行います。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 18 年度から実施している特別研究 4 課題のうち 2 課題について、進捗状況の点検、研究開発の質の向上、研究者の意欲喚起等を目的として、中間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 19 年 12 月 18 日（火）

2 場所

独立行政法人酒類総合研究所広島事務所

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)

(注) 委員には、酒類製造、醸造学等に関して高い見識をお持ちの方が就任されています。

課題名：清酒酵母の醸造特性及び栄養特性のポストゲノム解析

1 実施者

実施者：下飯 仁（プロジェクトリーダー）他 14 名

2 研究の背景、目的及び期待される成果

清酒酵母は実験室酵母と同じ *Saccharomyces cerevisiae* に属しているが、他の酵母と比べて優れた醸造特性及び栄養特性を持っている。しかし、その原因となる遺伝子は一部を除いて解明されていない。そこで本研究では、様々なポストゲノムの手法を用いて、清酒酵母の醸造特性及び栄養特性に関与している遺伝子及びメカニズムを解明する。醸造特性の解析においては、清酒酵母及び実験室酵母のゲノム情報に基づいて、比較ゲノム解析、DNA マイクロアレイ解析、QTL 解析などの手法を用いた解析を行い、清酒酵母の醸造特性の原因となる遺伝子を解明する。清酒酵母の醸造特性の遺伝子レベルでの解明は、清酒の品質の改良、多様化、製造方法の合理化などを目指した清酒酵母の育種を行うための基礎的情報を提供する。また、栄養特性物質は細胞内でさまざまな代謝を調整、制御する物質であり、酵母の醸造特性にも大きく関与すると考えられる。清酒酵母をその栄養特性の面からさらに研究することは、清酒酵母の特性把握の切り口として有効であり、醸造物の栄養学的価値を高めるほか、酵母を含有する醸造副産物の有効利用、高品質な食資源酵母の育種にも応用することが可能である。

3 研究概要

A. 清酒酵母の醸造特性のポストゲノム解析

当研究所が代表者である産官学 26 グループ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（NITE）との共同研究によって、清酒酵母きょうかい 7 号のゲノム解析を行う。得られたゲノム解析結果から、清酒酵母に特徴的な遺伝子を抽出し、それらの機能と清酒醸造との関係を解析する。また、清酒酵母の醸造特性について、量的形質遺伝子座（QTL）の解析を行い、醸造特性を支配している遺伝子を同定し、新規な清酒酵母の育種に利用する。

B. 清酒酵母の栄養特性のポストゲノム解析

清酒酵母の優れた栄養特性及びそれら栄養物質の醸造特性等に与える機能について明らかとする。特に、清酒酵母が高生産蓄積する S-アデノシルメチオニン（SAM）及び葉酸は細胞内でさまざまな代謝を調整、制御する物質であり、酵母の特性に大きく関与すると考えられる。清酒酵母の優れた栄養特性を生み出す遺伝子及びその機能について、遺伝学的及び分子生物学的解析によって解明し、有用酵母育種のための基礎的情報を提供する。

4 主な成果

A. 清酒酵母の醸造特性のポストゲノム解析

独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）及び清酒酵母ゲノム解析コンソーシアムとの共同研究により、清酒酵母きょうかい 7 号ゲノムのドラフトシーケンスが終了した。清酒酵母と実験室酵母との相同性は 96%であることがわかった。清酒酵母のゲノムには *EHL1* などの清酒酵母特異的の遺

伝子が存在することが明らかとなった。清酒酵母の醸造特性の解析のために、きょうかい7号から多数の一倍体を取得し、小仕込試験を行った結果、発酵性や香気成分生成などの醸造特性は量的形質遺伝子座 (QTL) によって支配されていることが明らかとなった。また、きょうかい7号の一倍体と実験室酵母との交配を行い、得られた二倍体を孢子形成させて得られた一倍体の小仕込を行った結果も、醸造特性は量的形質遺伝子座 (QTL) によって支配されていることを示していた。現在、DNA マーカーを利用した QTL 解析に取り組んでいる。

清酒酵母ゲノム解析結果については、論文にまとめるとともに、清酒酵母研究の促進のためにデータベースを構築し、広く一般に公開する。また、他の成果についても論文にまとめるとともに、産業上利用可能な知見については特許の取得を行う。

B. 清酒酵母の栄養特性のポストゲノム解析

清酒酵母は実験室酵母と比較し葉酸が顕著に多いことを見出した。葉酸は SAM のもととなるメチオニン及びアデニンなどの合成に必須の物質である。清酒酵母において葉酸が多いことは、その特性に深く関わっているものと考えられ、その機構や役割について興味を持たれる。しかし、これまでに酵母内葉酸量に関する研究がほとんどなされていないことから、現在酵母菌体内の葉酸定量法を検討し、各種培養条件での葉酸の変動について調べている。また、アデノシン生成酵素をコードする *ADO1* 遺伝子の破壊株において、YPD 培地のような通常 SAM 蓄積量の少ない培地においても親株より著量の SAM を生産蓄積することを見出した。現在、*ADO1* 遺伝子破壊株について SAM 高蓄積の機構解明を進めている。その他、細胞内に高蓄積された SAM と酵母の増殖について検討し、蓄積 SAM は濃度が高くなると酵母の増殖を抑制するが、培地中の N 源や S 源の種類や量に応じて再利用されていることを明らかとした。これらの成果は、論文にまとめるとともに、産業上有用な知見につき特許の取得を行う。

5 評価結果

- ・ 必要性
 - きわめて重要 □重要 □必要 □必要ではない
- ・ 効率性
 - きわめて効率的 □かなり効率的 □効率的 □非効率
- ・ 有効性
 - きわめて有効 □かなり有効 □有効 □有効性が認められない
- ・ 進捗状況
 - 計画以上 ■計画どおり □やや遅れている □遅れている
- ・ 総合評価
 - 拡大して実施すべき
 - 継続して実施すべき
 - 問題点を解決し、効果的、効率的な実施が求められる
 - 研究内容、計画、推進体制等の見直しが求められる
 - 課題の中止が求められる

6 総合所見

最新のポストゲノム手法を醸造特性の解明に応用した意欲的な研究であり、計画に従って順調に進行している。醸造特性の研究については、清酒酵母の醸造特性がQTLによって支配されていることを明らかにしたことは評価できる。実験室酵母と清酒酵母との差については、さらに遺伝子レベルでの解析を進めるとともに、今後は清酒酵母間の差異についての検討を期待する。栄養特性の研究については、S-アデノシルメチオニン等の物質はサプリメントとして有望であるため、清酒の副産物の有効利用につなげることを期待する。現在は、副産物の蓄積から酵母そのものの研究まで幅広く行われているが、将来的には方向性を絞るべきではないか。

また、当研究から得られた成果でバイオエタノール生産に関する新たな提案ができるならば、大変面白いと考えられる。

課題名：麴菌培養環境応答システムの解析及び麴菌総合データベースシステムの開発

1 実施者

実施者：三上重明（プロジェクトリーダー）他 13 名

2 研究の背景、目的及び期待される成果

我が国の「国菌」である麴菌については、これまでの 15 年以上にわたる基礎的解析及び当研究所をはじめとした関係各機関の連携により、ゲノム情報など国際的にも先導的なデータや多くの分子生物学的知見が蓄積しつつある。しかし、我が国の醸造産業を鑑みると、現在でも経験的な知識やノウハウを中心に麴菌の制御を行っており、ゲノム情報等が十分に生かされているとは言い難い。また、酵母等と比較して、古典的な遺伝解析が出来ないなど解析が困難な点が数多く存在した。

そこで本研究では、麴菌の制御や育種に利用することを最終的な目的とし、ポストゲノム研究を中心とした基礎的研究を着実に進め、ゲノム情報を活用するための基盤となる情報の提供を行う。また、我が国固有の技術である固体培養について、そのセンシングから様々なレベルにおける調節機構など、細胞内のネットワークを意識した解析を行う。

さらに、得られるポストゲノム情報を含めた麴菌ポータルサイトの構築を目指し、総合的な情報提供システムである麴菌総合データベースシステムの開発を行う。これらの研究により、ポストゲノム時代を迎えた麴菌研究の国際的な優位性を確保するとともに、酒類産業の活性化・高度化に貢献する。

3 研究概要

2005 年には全ゲノムシーケンスが報告されるなど、ここ数年、麴菌ゲノムについての情報が飛躍的に増加している。しかしながら、麴菌の分子生物学が急速に進んだのはここ数年のことであり、得られたゲノム情報が十分に酒類産業に活かされている状況にはない。麴菌のゲノム情報が十分に産業に活用されるためには、酒類の品質や製造プロセスに影響を与える遺伝子群と、それらの遺伝子発現や翻訳産物の量的、質的变化を明らかにするとともに、これらの遺伝子群の発現制御システム等を含めネットワークとして理解する必要がある。

そこで、本研究では固体培養を中心とした各種醸造条件について、経時的な遺伝子発現（トランスクリプトーム解析）やタンパク質の変動（プロテオーム解析）をポストゲノムの技術により広く解析するとともに、下流の代謝産物である低分子化合物についても検討する。さらに、これら遺伝子群の発現制御システムについて解析を行い、関係する遺伝子群のネットワークを解明する。

また、現在、麴菌をはじめとした *Aspergillus* 属については、ゲノム情報、文献情報を中心に多くの情報が蓄積している。さらに、本研究を通して遺伝子発現情報、プロテオーム情報など、膨大な情報の蓄積が期待されるが、その効率的な利用のためには、これらの情報を有効に利用できるデータベースシステムが必要である。そこで、我が国の酒類産業を支える重要な知的基盤として、ゲノム情報を中心に、予測 ORF、遺伝子発現情報やプロテオミクス情報、各遺伝子についての研究情報（論文等）を有機的に関連づけ、視覚的かつ効率的に情報蓄積、検索、閲覧が可能な麴菌総合データベースシステムの開発を行う。

4 主な成果

麴菌の全ゲノム配列を基に全遺伝子発現が解析可能な麴菌 DNAchip の作成を行うとともに、全遺伝

子の検出が可能で高い精度が得られることを確認した。続いて、本麴菌 DNAchip を用いて、スタンダードな条件で製麴を行った際の、麴菌の全遺伝子発現プロファイルを明らかにした。また、同条件で麴菌が生産するタンパク質生産プロファイルについても、2次元電気泳動及び質量分析により解析を行った。これらのプロファイルの結果から、製麴期間中の麴菌の遺伝子発現、タンパク質生産について、基本的なデータが得られた。これらの麴の製麴期間中では、様々な環境条件が変動し、麴菌の性質に深刻な影響を与えると考えられる。これまでの研究から、浸透圧ストレス（低水分活性）の変化は、糖化酵素やプロテアーゼ系酵素の生産性に影響を与えるなど、優良な麴としての基本的な性質に大きく関与している事が明らかとなった。しかし、その分子生物学的な要因については十分に解明されていない。そこで、液体培養とメンブレン培養における浸透圧ストレス適応時の遺伝子発現について検討を行うとともに、これらの応答遺伝子の製麴中の発現との関連について検討を行った。また、浸透圧ストレス適応時の麴菌の遺伝子発現に影響を与える転写制御因子についても検討を開始した。

製麴中の麴菌を評価する上では、低分子化合物について解析することも重要である。特に、製麴中の NAD, NADH 等の酸化還元補酵素の生産量及び酸化還元バランスは、麴の品質に大きな影響を与えると考えられるものの、測定法等の不備から十分に検討されていなかった。そこで、測定法について開発するとともに、培養環境への応答について検討を行った。

さらに、麴菌総合データベースシステムの開発については、麴菌総合データベースシステムの中核となる麴菌ゲノム情報データベースを構築した。具体的には、麴菌遺伝子について、約 200 遺伝子のイントロンの位置や 5' 及び 3' RACE 解析結果などを推定 ORF へと反映させるなど、そのデータの精度向上を図った。また、13,765 ORF に対する配列情報、推定機能ドメイン情報、EST における発現情報などを解析して関連付けるとともに、視覚的かつ効率的に検索、抽出、閲覧可能な麴菌ゲノム情報データベースを構築した。

5 評価結果

- ・ 必要性
 - きわめて重要 重要 必要 必要ではない
- ・ 効率性
 - きわめて効率的 かなり効率的 効率的 非効率
- ・ 有効性
 - きわめて有効 かなり有効 有効 有効性が認められない
- ・ 進捗状況
 - 計画以上 計画どおり やや遅れている 遅れている
- ・ 総合評価
 - 拡大して実施すべき
 - 継続して実施すべき
 - 問題点を解決し、効果的、効率的な実施が求められる
 - 研究内容、計画、推進体制等の見直しが求められる
 - 課題の中止が求められる

6 総合所見

麴菌培養環境応答システムの研究は、最近解析が終了した麴菌の全ゲノム情報を利用する上で重要

かつ時宜を得た研究であり、麴菌総合データベースについても世界に類を見ない試みとしてどちらも計画に従って順調に進行している。環境応答の研究については、杜氏の経験に頼っていた製麴が遺伝子レベルで解明されつつあり、この成果が実際の製麴に活用されることが期待される。また、酵素生産や、代謝産物について幅広く検討すべきである。データベースの開発については、公的機関として重要な仕事であり、今後ともこまめにアップデートするなどして、開発を継続して頂きたい。