

独立行政法人酒類総合研究所 理事長
木崎 康造

平成23年4月の第3期中期目標期間のスタートから理事長を拝命しました木崎康造です。酒類に関する科学技術の発展と豊かな国民生活に役立つよう努力して参りますので、どうぞ宜しくお願いします。

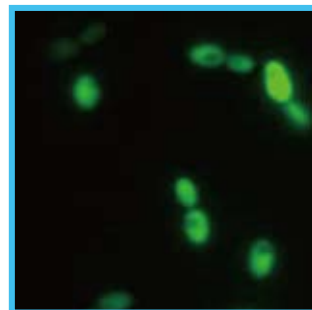


人類は昔からお酒造りにおいて酵素の力を利用しています。しかし、東洋と西洋では酵素源が異なり、それが酒文化の大きな違いとなっています。西洋では麦を発芽させた「麦芽」を、一方東洋ではお米などの穀類に麴菌等の微生物を増殖させた「麴」を使ってきました。今回は、我々東洋人が長い間育んできた醸造関連微生物を利用した酵素の生産に関する2つの研究を紹介します。

一つは、麴菌がタンパク質を生産する能力が高いことを利用して、有用酵素を大量生産させる研究です。麴菌は、糖化酵素等を大量につくりますが、別の酵素をつくらせるのは困難でした。しかし数年前に終了した麴菌の全ゲノム解析をきっかけにそれが実現可能になりました。

もう一つは、我々が特に醸造用排水の処理のために探索した酵母を利用して、この酵母が生産する有用酵素をより大量に生産させる研究です。研究が進んでいないこの酵母に対し、我々が従来蓄積してきた遺伝子工学技術を応用することで、有用酵素の生産量を格段に増やすことができました。

今後は醸造研究においてこれまで蓄積した技術や成果を、多くの関連微生物資源とその利用に活用し、この分野でのさらなる発展を期待しています。

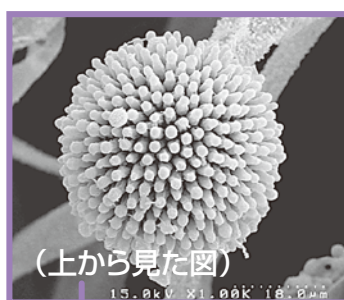


酵母のタンパク質発現の様子

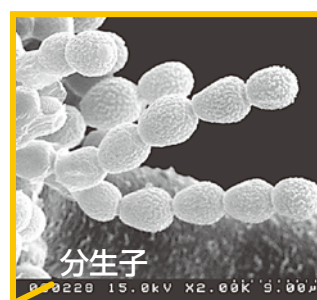
目的とするタンパク質をGFPという緑色蛍光を発するタンパク質と一緒に生成させることにより、細胞内のタンパク質の生成過程を培養しながらリアルタイムで確認できます。この写真は同じ酵母細胞を左は顕微鏡、右は蛍光顕微鏡により観察したものです。このGFPの発見と応用の業績により2008年に下村脩博士らがノーベル化学賞を受賞され、現在多くの研究や検査等において利用されています。

特集 微生物による酵素生産

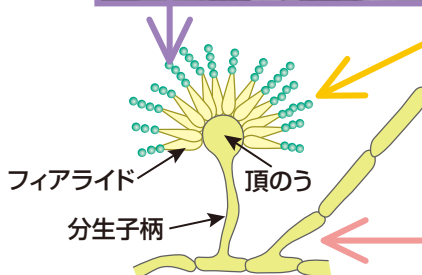
酒類総合研究所では、醸造関連微生物である麴菌や酵母がつくる酵素の機能解明や有効利用について研究しています。酵素の実体は小さなタンパク質ですが、多くの酵素は生命体が生きて行くのに必要な化学反応を進めていく重要な役割を果たしています。酵素は、いわば細胞という工場の中で働いている小さくても偉大な職人なのです。



(上から見た図)



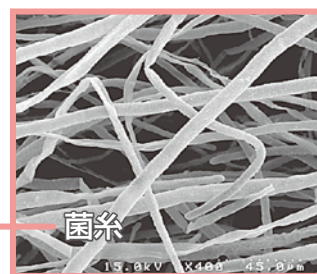
分生子



フィアライド

分生子柄

頂のう



菌糸

麴や酵素生産に利用される麴菌の姿(走査型電子顕微鏡による写真)

電子顕微鏡で覗いた麴菌の姿はとても神秘的だと思いませんか？ 麴菌を固体培養やプレート培養すると細胞が分化し、糸状に伸びた菌糸から分生子柄、頂のう、フィアライド、分生子といった器官をつくります。その過程で、麴菌はつくった酵素を菌糸の先端から分泌し、その酵素で周りの養分を分解して栄養として吸収していきます。3つの写真は、左下の麴菌(図)の一部分を電子顕微鏡で撮影したものです。

麴菌を用いて有用酵素の大量生産へ

醸造技術応用研究部門 研究員 水谷 治 (みずたに おさむ)



醸造技術を参考に、麴菌の幅広い活用と有用酵素の生産を通して社会に貢献出来るよう頑張っています。

麴は酵母のお母さん!?

清酒は米、米麴、水を酵母で発酵させてつくります。麴菌を蒸米に生やしたものが米麴ですが、清酒ができる過程で、米麴はちょうどお母さんが赤ちゃんにしてあげるように原料米(ごはん)のデンプンやタンパク質を酵母(赤ちゃん)が食べられるよう碎いてあげます。その役目をするのが米麴に含まれる酵素で、タンパク質でできており、麴菌が伸ばす菌糸の先端部分から分泌されます。

これら酵素の力を一番簡単に知るためには、米麴で甘酒をつくってみることをお勧めします。デンプン分解酵素(アミラーゼ等)の働きによりお米のデンプンがその構成要素であるブドウ糖に分解され、甘くなります。目に見えない酵素の威力を実感できると思います。

麴菌は有用だけどやっかい!?

酵素をつくる麴菌は古来から清酒をはじめ味噌・醤油・酢などの日本の伝統的な醸造食品の発酵生産に使われています。また酵素は、近年食品製造に留まらず化学工業

製品の製造や医療の検査など社会の至る所で利用されており、少量でもすごい力をもつ貴重な物質です。

麴菌は簡単に甘酒がつくれるほど大量の酵素をつくる能力があることから、麴菌に目的とする外来の酵素やタンパク質を生産させることに期待が高まっています。しかし、いくつかの問題があり研究は余り進んでいませんでしたが、2005年の麴菌全ゲノム解析の終了をきっかけに、麴菌をとりまく研究環境は大幅に変化しました。

麴菌に目的酵素を生産させる研究が進まなかった理由の一つは、麴菌が元々タンパク質分解酵素(プロテアーゼ)を多量に、しかも大量につくるためです。プロテアーゼはタンパク質を構成要素であるアミノ酸に分解する酵素なので、麴菌が貴重な目的酵素(タンパク質)をつくっても、同時にできるプロテアーゼで分解されてしまいます。先のゲノム解析で麴菌にはプロテアーゼをつくる遺伝子が100個以上もある事が分かり、遺伝子全部を改変(破壊)するには大変な時間と労力がかかると考えられました。しかし、その後これらの大量のプロテアーゼ遺伝子の働きを共通制御する司令塔のようなタンパク質が発見され、その遺伝子一つを改変するだけで多くのプロテアーゼをつくらなくなり、目的酵素の分解も防ぐことができました(図1)。

研究が進まなかったもう一つの理由は、麴菌では目標とする遺伝子を確実に改変することができず、目的とする遺伝子組換え体が得られないためです。ゲノム解析の結果、その原因となる遺伝子が発見され、その遺伝子を改変した麴菌株を使うことで、ほぼ

確実に狙った遺伝子組換え体が得られるようになりました。

これらの一連の研究により、ようやく麴菌を用いて目的酵素を生産する研究が順調に進むようになりました。

酵素生産力の向上をめざして

我々はこれらの技術を利用して、酵母由来のバイオプラスチック分解酵素やきのこ由来のラッカーゼの遺伝子を組み込んだ麴菌株を固体培養し、それら酵素の大量生産を試みました。次頁にも紹介しているバイオプラスチック分解酵素は、当所で分離した酵母がつくる酵素ですが、麴菌により麴1kgあたり4g以上の生産に成功しました。ラッカーゼは発癌性のある物質を分解除去する効果があるもので、従来の報告より生産効率が向上しました。いずれも環境中の有害物質等の分解を行う重要な酵素で、麴菌によるこれら酵素の生産量は十分実用レベルに達しています。

さらにこれら目的酵素の生産性を上げるには、実は甘酒をつくる際に利用する酵素アミラーゼが邪魔になります。アミラーゼは麴菌が最も大量につくる酵素で、目的酵素を精製する際に不純物となるからです。そこで、先の目的遺伝子組換え体を得る技術を使って麴菌に3個あるアミラーゼ遺伝子を破壊し、アミラーゼをつくらない麴菌株(図2)を得ることで、さらなる生産性の向上を目標としています。

今後は麴菌を利用するこれらの酵素生産技術を十分に活用することにより、有用酵素やタンパク質の大量生産を自在に行い、環境浄化等の分野を始め幅広い分野で貢献することにより、最終的には皆様の生活のあらゆる場面でお役に立てることを目指しています。

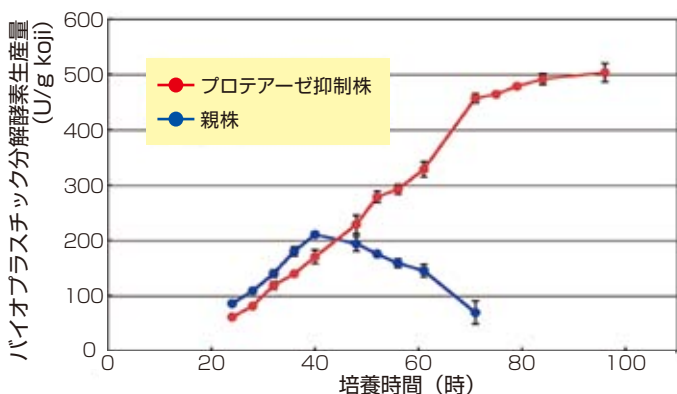


図1 プロテアーゼ生産抑制株による異種タンパク質生産量

固体培養(小麦フスマ培養)で麴菌の親株とプロテアーゼ生産抑制株を用いて異種タンパク質であるバイオプラスチック分解酵素を生産させたものです。親株では自身が分泌するプロテアーゼによって生産量が減少していくのに対し、抑制株では培養4日目まで生産量が増加する事が分かりました。

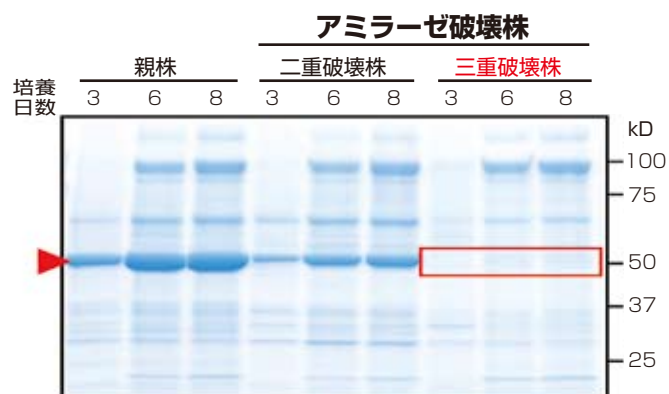
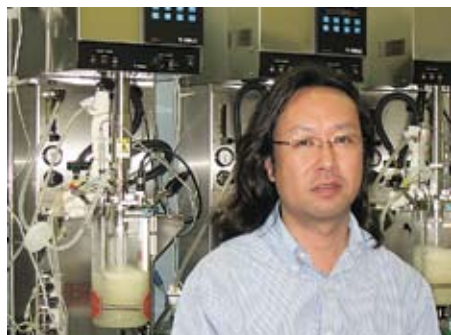


図2 麴菌のアミラーゼ遺伝子破壊株

麴菌のゲノム中に3つ存在するアミラーゼ遺伝子を破壊(改変)した三重破壊株の培養液をSDS-PAGE(タンパク質を電気泳動させ、それらの分子量に応じた位置に出るバンドの有無等でタンパク質生成の確認を行う方法)にかけ、アミラーゼバンド(赤い矢印)の消失によりアミラーゼができていない事が確認できました。

酵母による酵素の生産技術

醸造技術応用研究部門 主任研究員 正木 和夫 (まさき かずお)



微生物には未知の可能性がたくさん潜んでいます。それらの有効利用について研究を進めています。

酵母探索は宝の山

酵母と酵素、一字違いで似ています。どちらも文字通り「発酵」と深く関わりがあるのですが、酵母は数ミクロンほどの楕円形の単細胞微生物（生命体）であり、酵素は酵母等細胞の中で代謝反応等を担うタンパク質（物質）です。

酵母の中で一番代表的な存在はアルコール発酵等で使われるサッカロミセス・セレビシエという種（しゅ）で、いわば酒造り界のスーパースターです。この酵母は発酵現象や生命現象の解明において、長い間人類の重要な研究対象となってきました。

しかし、現在わかっているだけでも酵母の種は1300を超えていて、多様性に富んでいます。またその中には、セレビシエと肩を並べるさまざまな才能を持つ酵母が数多く存在します。そこで、これまでセレビシエを対象に行ってきた研究の技術や成果の蓄積を基に他の酵母の研究を行うことで、新たな酵母の有用性、いわば埋蔵された宝が発掘できると期待されています。

例えば我々は、醸造関連工程に応用できる有益な酵母の探索を行い、ある酵母が酒造

現場から出る洗米排水等の浄化処理に有効であることを見いだしました。この酵母がエヌリブ5号で紹介したクリプトコッカス sp. S-2 株です。詳しく調べてみると、S-2 株はいくつかの有用酵素をつくり、酵素生産能力に優れるという特性を持つことがわかりました。また、S-2 株は液体培地中であり高密度になるまで増やせます。

酵素が人間社会を変える!?

もし有用な酵素を大量に生産できれば、実用の可能性が高まります。そこでS-2 株を使って、いくつかの有用酵素の高生産を試みました。しかし、まずこの酵母の遺伝子情報が全くないという問題にぶつかりました。試行錯誤を繰り返し、セレビシエや他の微生物の遺伝子工学技術を応用することで、目的とする酵素の遺伝子を組み込む技術やその遺伝子が強力に働く仕掛けを探しあて、ようやくS-2 株の遺伝子組換え体を得ることができました。さらに培養条件を検討することにより、S-2 株で有用酵素を高生産できることが分りました。例えば、S-2 株が元々生産するバイオプラスチック分解酵素では、これらの技術を利用して50倍も生産性を上げることができました（図2）。この高生産株は、S-2 株がもつ遺伝子の機能だけを組み換えたものです。

太陽光から光合成により得られる植物資源をバイオマスと呼びますが、バイオプラスチックはこれを原料としてつくられ、多くは微生物により水と二酸化炭素に分解されるプラスチックです。従来のプラスチックと比べ二酸化炭素の排出量が少なく、地球温暖化対策にも役立つという利点があります。中でも、ポリ乳酸は強度や生体適合性もあり、最も利用が進んでいます。ただし、他のバイオプラスチックと比べ分解されにくく、分解に有効な微生物や酵素が見つかっていま

んでした。我々が見つけたS-2 株がつくるバイオプラスチック分解酵素は、ポリ乳酸をはじめ他のバイオプラスチックを速やかに分解できます。この分解酵素の生産性をさらに向上させることにより、ポリ乳酸の利用とリサイクルを一層進めることができます。しかも、これらのプロセスは安全で環境への負荷が少なく、資源を節約できるというメリットもあります。

さらなる生物資源の利用を目指して

人類が酵素を利用する機会はますます広がっています。前頁では、麹菌による酵素生産を紹介しました。酵母は液体培地中で酵素生産ができ、他に分泌生産される夾雑物が少なく酵素を利用しやすい特徴があります。また、現状では酵素生産に優れている微生物ならどの酵素でも生産できるわけではなく、酵素をつくる微生物に得意、不得意な酵素があります。つまり、多様な有用酵素を生産するには、その酵素に合う有用微生物を探し出して利用することも重要です。

酵母S-2 株は、バイオマスをエネルギーとして利用するために注目されているセルラーゼやアミラーゼ等の糖質分解酵素をつくり、これらの酵素を大量生産できることも分かってきました。また、従来はつくれなかった酵素が、S-2 株で実用生産できる例もできました。

海外発の酵素生産技術は数多くありますが、伝統ある酒造りで育んだ酵母や麹菌等の微生物を利用する物質生産技術は、日本が世界をリードできる技術と言われています。昨年は生物多様性についての記事が多く見られました。今後、酵母の多様性に目を向けてみれば、これまで注目されていなかった数多くの酵母にも、有用な酵素の生産を始め、人類にとってお酒を提供することに匹敵する位の大きな可能性が潜んでいるのではないかと考えています。



図1 酵素を生産するための酵母の培養

温度、pH、溶存酸素量(DO)、栄養分の添加速度などを調節して、酵母に最適な酵素生産条件を設定します。

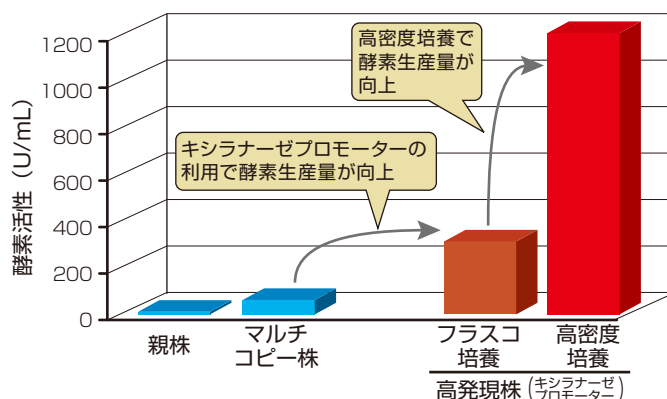


図2 酵素生産性の向上のための取組み

S-2 株が生産するバイオプラスチック分解酵素の高生産に向けた酵母育種を行いました。本来S-2 株（親株）が生産する酵素量に比べ、遺伝子数を向上させた株（マルチコピー株）やプロモーターを強化した株を作製することにより酵素生産量が向上しました。また、培養条件の検討により、さらに酵素生産量が向上しました。

1 第47回 酒類総合研究所講演会

平成23年5月24日に東広島市市民文化センター(東広島市西条西本町)において、第47回独立行政法人酒類総合研究所講演会を開催しました。木崎理事長による当所の「第3期中期計画の概要」に関する説明と最近の研究成果5題、続いて広島修道大学 今田純雄教授による「人はなぜ酒を飲むのだろうか：食行動科学の観点から」の特別講演が行われ、多くの参加者の方に熱心にご聴講いただきました。

なお、各講演の要旨は当所ホームページに掲載しています。

<http://www.nrib.go.jp/kou/47kouen.htm>



お知らせ

第3期中期目標・計画がスタートしました。

独立行政法人酒類総合研究所は、酒類に関する研究や情報提供等を行うことにより、「酒税の適正かつ公平な賦課の実現」、「酒類業の健全な発達」、「酒類に関する国民の認識を高める」ことを目的に平成13年4月に発足しました。第1期、第2期と各5年の中期目標期間を終え、本年4月より5年間の第3期中期目標期間(以下、当期といいます。)に入りました。当期においては、財務大臣から示された中期目標の内容に沿って作成した中期計画に基づき、行政ニーズにしっかりと対応した研究及び調査を行い、広く国民の皆様へ貢献することを目指しています。研究課題の詳細は次のアドレスをご覧ください。

<http://www.nrib.go.jp/ken/pdf/D3tyuken.pdf>

浮ひょう校正業務の変更について

当所は、従来酒類業者及び公的試験研究機関等の方に対する浮ひょうの校正を行ってきましたが、当期中期目標に沿った業務内容の見直しにより、今後は原則として他の校正機関を紹介させていただくこととしました。大変ご迷惑をお掛けしますが、何卒ご理解を賜りますようお願いいたします。次のアドレスにおいてもご案内しております。

http://www.nrib.go.jp/annai/fh_kou/fh_kou_info.htm

全国新酒鑑評会の賞状の再交付について

この度、東日本大震災で犠牲になられました方々に謹んで哀悼の意を表しますとともに、被災された皆様に対し、心よりお見舞い申し上げます。この震災で全国新酒鑑評会の賞状を紛失あるいは損傷された清酒製造者の方に対し、再交付を行っています。希望される方は、広島事務所までご連絡ください。次のアドレスもご参照下さい。

皆様の一日も早い復興を心よりお祈り申し上げます。

<http://www.nrib.go.jp/kan/pdf/kaninfo1106.pdf>

お酒のQ&A

平成23年4月に当所HP「お酒のQ&A」欄が更新されました。当所にこれまで寄せられたお酒に関する質問の中から、お問い合わせの多かった項目をまとめました。是非一度、次のアドレスよりご覧ください。

<http://www.nrib.go.jp/sake/sakefaq.htm>

2 全国新酒鑑評会 公開きき酒会

当所と日本酒造組合中央会の共催により開催した平成22酒造年度全国新酒鑑評会には、数多くの東日本の清酒製造者の方々からも出品していただきました。

当該鑑評会の公開きき酒会である「平成22酒造年度全国新酒鑑評会公開きき酒会」が平成23年6月15日にサンシャインシティ(東京都豊島区)において行なわれました。同時開催された「第5回全国日本酒フェア」を併せたイベント「日本酒フェア 2011」には、約5,100名の方が来場し、入賞酒や各地の自慢の銘酒を熱心にきき酒されていました。



3 第34回 本格焼酎鑑評会

第34回本格焼酎鑑評会には全国33都道府県の焼酎製造場86場から202点が出品されました。審査は平成23年6月2、3日の2日間31名の審査員によって行われました。製造技術研究会は同6月24日に広島事務所で、127名の方が参加されました。当該鑑評会は、前々回より日本酒造組合中央会と共催しています。

4 講習等

【講習】

日本酒造組合中央会と共催して行った第105回酒類醸造講習－清酒上級コース(広島事務所)と第41回清酒製造技術講習(東京事務所)は平成23年6月に無事終了しました。また東京事務所では、引き続き第42回清酒製造技術講習を9月12日に開講します。

【平成23年度清酒官能評価セミナー】

当所では清酒に関する官能評価の専門家を養成する清酒官能評価セミナーを次の日程で開催する予定です。詳しくは、ホームページをご覧ください。 <http://www.nrib.go.jp/kou/kouinfo.htm#tokyo>

(1) 第11回 平成23年11月8日～11月11日

(2) 第12回 平成24年2月14日～2月17日

なお、清酒の香味に関する教育訓練のために、ホームページに資料「清酒のにおいとその由来について」を掲載しましたので、是非ご利用ください。 <http://www.nrib.go.jp/data/seikoumi.htm>



みんなで止めよう温暖化

チーム・マイナス6%

技術相談窓口案内

酒類に関する質問にお答えします。

TEL：082-420-0800(広島事務所)

TEL：03-3910-6237(東京事務所)

発行

独立行政法人酒類総合研究所

National Research Institute of Brewing (NRIB)

ホームページ <http://www.nrib.go.jp/>

〒739-0046 広島県東広島市鏡山3-7-1

TEL：082-420-0800(代表)

〒114-0023 東京都北区滝野川2-6-30

TEL：03-3910-6237

◎本紙に関する問い合わせは、下記まで

企画編集 TEL：03-3910-6237

(後藤、坂本、前田)

◆「エヌリブ」はホームページでもご覧になれます。

<http://www.nrib.go.jp/sake/sakeinfo.htm#kouhou>