

独立行政法人酒類総合研究所 理事長
木崎 康造



日本において麹菌は、伝統的な食品製造や食文化に貢献するとともに、医薬品や有用物質の生産に利用されており、今後さらに産業界で広く活用されていくものと思われます。麹菌は、古来大切に育み使ってきた日本の貴重な財産として「國菌」とも呼ばれています。

当研究所では明治時代から麹菌の研究をしていますが、今回は最新の研究を2つ紹介します。

1つは、日本酒の製造に用いられる黄麹菌の研究です。遺伝学からのアプローチを始めてみると、我々が長年行ってきた黄麹菌の研究は、まだ入口付近にいたことがわかりました。そこで、黄麹菌の性質や機能の解明、そして黄麹菌とお酒の味や成分との複雑な関係を解析するため、最新技術を取り入れた研究を行っています。

もう1つは、焼酎製造に用いられる黒麹菌の機能解析です。焼酎麹菌に属する黒麹菌は有機酸（クエン酸）を大量に生産する性質を持ちますが、この性質は焼酎造りに欠かせないものです。これら焼酎麹菌が持つ有用な性質や機能を遺伝子レベルで解明するための第一歩となった黒麹菌の研究を紹介します。

当研究所では、これまで積み上げてきた知見を活かしながら、麹菌の基礎的・基盤的な研究をさらに進め、これらの成果を酒類行政ニーズに応じた分析・鑑定や酒類の安全性確保、そして酒類業の振興に繋がるための醸造技術の開発などに活用してまいります。同時に、麹菌の科学技術と文化が日本から世界に発信されることを願います。



麹菌の種類と用途

糸状菌の一種である麹菌は、お酒などを造るために欠かせない微生物で、「色」や「用途」によって3種類に分けられます。日本酒、味噌、醤油の製造に使われる黄麹菌と、焼酎製造に使われる焼酎麹菌（黒麹菌と白麹菌）です。また、麹菌は医薬品や酵素などの有用物質の生産にも広く用いられています。

特集 麹菌の機能を調べる

麹菌を含む糸状菌の遺伝子解析が進展し、麹菌の染色体の中には1万を超える遺伝子が存在することがわかってきました。しかし、その大半の遺伝子の機能は、まだわかっていません。酒類総合研究所では、遺伝子工学などの最新の方法を使って麹菌の有用な形質や機能の解析を行い、麹菌の醸造特性の把握や酒類の安全性の確保などに活用しています。

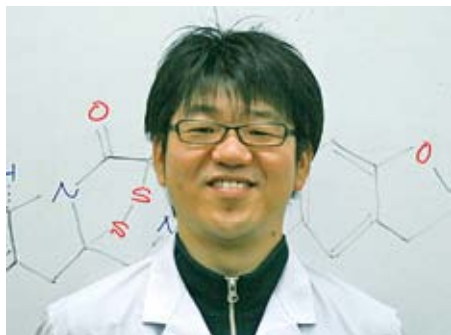
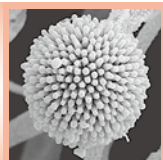


泡盛麹：黒麹菌による製麹工程の様子

黒麹菌は焼酎造りとりわけ沖縄の泡盛に使われますが、九州地方の焼酎で主に利用される白麹菌の先祖にあたります。というのも、白麹菌は黒麹菌の胞子にある黒色色素が作れなくなった白色変異体なのです。また、この黒麹菌はヨーロッパ等で命名されたニガー菌と色などが似ているため、同じ種類の菌ではないかと考えられていましたが、ゲノム情報を解析した結果、「ニガー」とは異なる別の種であり、「リューキューエンシス」の名前がふさわしいと考えられました。この詳細についてはNRIB15号に書かれていますので、是非ご覧ください。

黄麴菌はどこまで分かったか? -日本の食文化の原点を見つめる-

醸造技術基盤研究部門 主任研究員 岩下 和裕 (いわした かずひろ)



「日本酒を世界酒に!」日本の歴史の中で鍛えられた酒造りの技術を、さらに科学の目で磨き世界の人々を魅了したい。

黄麴菌という未知の微生物

黄麴菌 (*Aspergillus oryzae*) は、日本酒だけでなく醤油や味噌などの製造には欠かせない微生物で、1878年のアールブルグ氏による発見から135年間も研究されています。これを聞いて、皆さんの中には「黄麴菌の事は知りつくされている。」と思われる方も多いと思います。実際にそうでしょうか?

例えば、人体の研究を見てみましょう。近代、人体の構造が体系立てて研究され始められたのは1543年からで、アンドレアス・ヴェサリウスによると考えられます。また、近代医学の始まりは1676年のレーウェンフックによる顕微鏡の観察と言われ、その後の医学の発展のきっかけは1862年のパスツールらによるパスツリゼーション(低温殺菌法)の開発と言われています。これらは微生物の発見、そして微生物学の始まりでもあり、発酵学との起源を共にします。このように、人体や近代医学でさえも300年を超える歴史を有しているわけですが、依然として人体に関して分からないことは

多々あります。これと同じように、黄麴菌も1世紀を超える研究の歴史がありながら、到底知りつくされているとは言えない、むしろ謎の多い微生物なのです。

黄麴菌が本当に謎の多い微生物であるという事は、2005年の「黄麴菌全ゲノム解読」で見事に示されました。ゲノム解析の結果、黄麴菌には12,000個程度(大腸菌は約3,000個、人間は約30,000個)の遺伝子が見つかりましたが、全遺伝子の約半数は機能がわからない「機能未知の遺伝子」だったので(図1)。また、全ゲノムが明らかになるまでに、実際に研究が進んでいた遺伝子はたったの1%程度しかありませんでした。たったの1%です! 100年以上の研究で積み重ねてきた我々の知識は、遺伝学上では、まるで大海に浮かぶ小舟のようなものだったので。

機能未知遺伝子の解析

広大な未知の領域を目にした我々は、これらの遺伝子と米麴の品質などの関係を調べるために、まず黄麴菌全遺伝子の発現量(実際に働いている遺伝子の量)を解析することが出来る黄麴菌DNAチップを開発しました。これを用いて米麴を造る際に働く遺伝子を解析したところ、発現量の多い上位10%(約1,200個)の中に機能未知遺伝子が約400個含まれていました。機能未知遺伝子は実際に活動しており、何らかの機能を果たしていると考えられました。

次に我々がとった手段は、機能未知遺伝子を1つ1つ狙って破壊してみることでした(図2)。まず、129個の遺伝子を壊してみたところ、なんと42個の遺伝子で、その遺伝子を破壊した株(破壊株)の生育がかなり悪くなったのです。約12,000個の遺伝子のうち1つの遺伝子を

壊しただけで生育に影響が出るわけですから、いかにそれが重要な遺伝子であるかがわかります。さらに、黄麴菌は分生子柄(稲や麦で例えると「稲穂や麦の穂」の様器官)を作りますが、29個の遺伝子でその破壊株に形態異常が見られました。たった100個程度の遺伝子を解析しただけでも、これだけ重要な遺伝子が見つかってきました。黄麴菌の性質や機能に関する本当の研究はここからようやく始まったといえるのではないのでしょうか?

黄麴菌の姿を追って

では、黄麴菌の遺伝子とお酒の味や成分との関係はどうでしょうか?これが一番気になるところですが、実はこの研究は一筋縄ではいきません。というのも、遺伝子を破壊した黄麴菌は「遺伝子組換体」となり、通常は口に含む事が出来ないからです。

日本酒の中には、これまでに約300種類の成分が報告されていますが、それらすべての成分を分析するには3か月から半年という多大な時間を要します。しかし、近年一度に沢山の成分を解析出来るという画期的な技術が出てきました。研究者の間ではメタボロミクス技術と呼ばれる技術です。我々は今、この技術をお酒の分析に適用出来るように技術開発を行っています。これを使えば、約300成分が2、3日で分析可能ですし、お酒の分析・鑑定や安全性の確保が可能になります。例えば、万が一お酒中に原料に由来する有害物質等が含まれていた場合にも、それを速やかに検出できます。さらに、広範なお酒の成分と黄麴菌の遺伝子との関連性を明らかにし、醸造技術の発展に活かしていきたいと考えています。

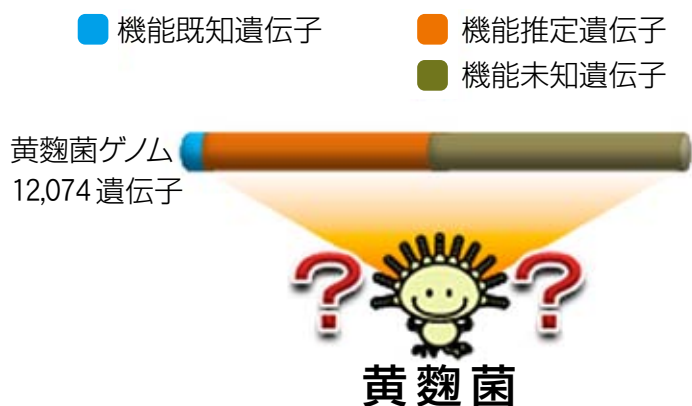


図1 黄麴菌遺伝子の約半数は機能未知

黄麴菌ゲノム解析の結果、黄麴菌遺伝子の約半数は機能を予測することが出来ず、ゲノム解析当時、実際に研究されていた遺伝子(機能既知遺伝子)はたったの1%でした。

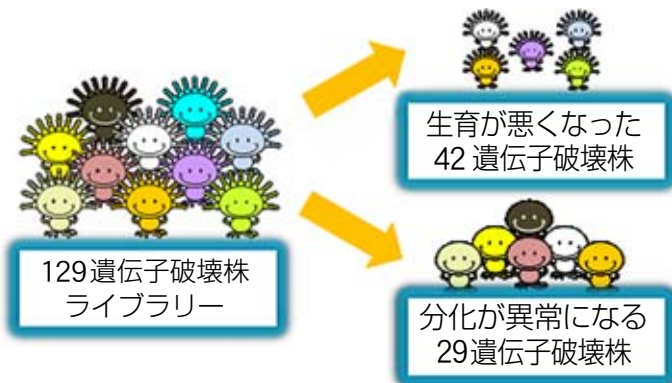
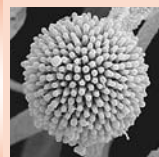


図2 機能未知遺伝子を壊してみると

機能未知遺伝子を壊してみると、生育が悪くなったり、分生子形成(分化)に異常が見られるなど顕著な影響が見られました。

焼酎麹菌の機能解析を目指して

醸造技術基盤研究部門 研究員 高橋 徹 (たかはし とおる)



焼酎麹菌の研究を盛り上げていきたいと思っています!

焼酎麹菌のなぞを探る

表紙でも紹介していますが、クエン酸を大量に生産するという焼酎麹菌の特性は、焼酎製造を安全に行うために欠かせないものです。しかし、その生産メカニズムはほとんど分かっていません。

焼酎麹菌の1つである黒麹菌を始めとする全ての生物には、遺伝情報全体の設計図である「ゲノム」というものがあります。ゲノムには、その生物種が持つ全ての遺伝子が含まれており、その1つ1つの遺伝子にはその生物の形質を決める、例えば「タンパク質Aを作る」などの指令が書かれています。

近年、ある黒麹菌の全ゲノム配列(全遺伝子の並び方)が解読されました。一般的に同一性質を持つ菌を「〇〇株」と呼ぶので、以下では、この黒麹菌を「GS(ゲノムシーケンス)株」と呼びます。GS株では、全ての遺伝子の並び方は分かったものの、そのほとんどの遺伝子の機能やその遺伝子によって作られる物質は

分かっていません。

一般的に、遺伝子の機能は以下の方法で解析します。例えば、他の糸状菌などの研究から類推して、クエン酸の生産に関連すると予測される遺伝子がGS株でみつかったと仮定します。GS株のゲノムからこの遺伝子を無くした菌株を作ってクエン酸が生産されないことを調べられれば、GS株においてこれがクエン酸生産に関する機能を持つ遺伝子であることが解析できます。

ただし、この解析を効率よく行うためには、「形質転換」と「目的遺伝子の破壊」という2段階の技術開発が必須となります。「形質転換」とは、目的遺伝子の組み込みなどによりゲノムを改変する技術です。「目的遺伝子の破壊」とは、「形質転換」技術をさらにおし進めたもので、ゲノムから「目的遺伝子」を無くして取り除く(欠損させる)技術です。残念ながらGS株ではどちらの技術も確立していませんでした(図1)。

機能解析への壁を越えて

糸状菌の形質転換には、主に2つの方法、プロトプラストPEG法とエレクトロポレーション法が用いられていますが、これらはGS株の形質転換に利用できませんでした。そこで、植物の形質転換に用いられるアグロバクテリウム法を応用したところ、GS株から形質転換した株を多数取得することに成功しました。

さらに、近年、糸状菌の分野で、遺伝子破壊を阻害する遺伝子*ligD*の存在が明らかになりました。この遺伝子を事前に

破壊しておく、目的とする遺伝子の破壊が高効率で可能となるのです。早速、この方法を黒麹菌に応用しました。ただし、*ligD*遺伝子自体の破壊は、*ligD*遺伝子が存在する状態で行うので困難を極めました。が、約半年間の努力の末、ついに*ligD*破壊株を造成することができました。

実際に*ligD*破壊株を用いて、黒色色素を合成する遺伝子の破壊を行ったところ、ほとんどのコロニーが白色の胞子をつけ(図2)、これら全ての株では確かにこの遺伝子が欠損していました。また、この*ligD*破壊株を用いることで、数ヶ月を要する目的遺伝子の破壊が2週間程に短縮できるようになりました。

クエン酸の生産などは複数の遺伝子群が複雑に関連しており、より高度な技術や解析が必要となりますが、遺伝子の機能解析に向けて、ついにスタートラインに立つことができたのです。

機能解析と安全性の証明へ

近年では、安全性の観点から、世界中で糸状菌が作り出すカビ毒(マイコトキシン)の研究が急激に進んでいます。麹菌は高い安全性が認められていますが、遺伝子レベルでの証明が必要な時代となりました。今後は、この*ligD*破壊株を使って焼酎麹菌の機能、安全性や醸造特性に関わる遺伝子、例えば、クエン酸の生産やマイコトキシンの非生産性に関わる遺伝子群や黒麹に由来する泡盛などの香味成分の生産に関する遺伝子についても解析を行っていきたくと考えています。

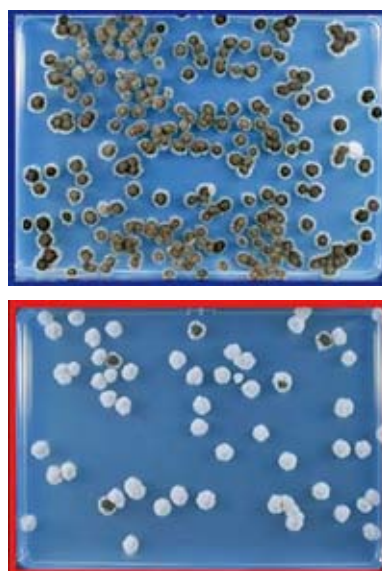
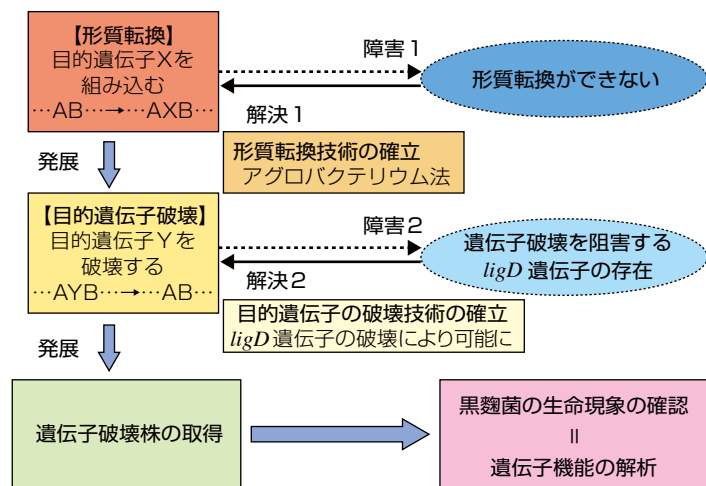


図2 黒色色素生成遺伝子の破壊効率の検定

ligD 遺伝子破壊株において白色の胞子をつけているコロニー数が増加していることが分かります。

(上) *ligD* 遺伝子を持つ株に対する黒色色素生成遺伝子の破壊
(下) *ligD* 遺伝子破壊株に対する黒色色素生成遺伝子の破壊

図1 黒麹菌の遺伝子の機能解析

今回行った黒麹菌の機能解析方法を図式化しました。

1 研究発表

(1)日本生物工学会大会

平成24年10月23～26日、神戸国際会議場において、日本生物工学会創立90周年記念大会が開催されました。当研究所からは一般講演4題の発表を行いました。また、渡辺大輔研究員(醸造技術基盤研究部門)の「清酒酵母の高発酵性に関する遺伝学的研究」が生物学分野での顕著な業績が認められ、日本生物工学会から第45回生物学奨励賞(江田賞)が授与されました。



(2)日本醸造学会大会

平成24年9月26及び27日、「北とびあ」(東京都北区)において平成24年度日本醸造学会大会が開催されました。当研究所からは、清酒成分の効果や機能に関する研究など4題の発表を行いました。

2 研究所施設公開

平成24年10月19日に広島中央サイエンスパークの施設公開が行われました。当研究所には、地元の高校生を中心に705人の方が来所されました。当研究所の施設や研究紹介のパネル、甘酒や麦汁の試飲、味覚チェックや微生物のコーナーなど、当研究所ならではのブースに多くの方が関心を寄せておられました。



今回は同時特別企画として、歴代内閣総理大臣揮毫色紙「國酒」(レプリカ)の展示を行いました。昭和55年1月5日の大平正芳内閣内閣議で政府として積極的に日本酒の愛用推進を決定するとともに、第68・69代大平総理大臣が「國酒」と揮毫された色紙を日本酒造組合中央会会長に贈られたことが始まりとなり、以来、歴代の総理大臣から「國酒」と揮毫された色紙が日本酒造組合中央会に贈られています。訪れた多くの方がその貴重な色紙に見入っていました。

3 第106回酒類醸造講習(本格焼酎コース)

第106回酒類醸造講習(本格焼酎コース)が、平成24年11月26日～12月21日まで行われました。約1か月にわたって、14名の講習生が本格焼酎造りを熱心に学びました。講習生皆さんの今後の御活躍を期待しています。



みんなで止めよう温暖化

チーム・マイナス6%

お知らせ

1 平成24酒造年度全国新酒鑑評会について

当研究所は、吟醸酒を全国的に調査研究することにより、製造技術と酒質の現状及び動向を明らかにし、清酒の品質向上に資することを目的として日本酒造組合中央会と共催により、「全国新酒鑑評会」を行っています。平成24酒造年度の鑑評会は、101回目に当たります。詳細につきましては、ホームページをご覧ください。

<http://www.nrib.go.jp/kan/kaninfo.htm>

2 ホームページのリニューアルについて

当研究所は、利用しやすいホームページを目指して、平成25年1月にホームページをリニューアルしました。トップページには、醸造のシンボルである酵母と杉玉がデザインされています。

お酒の情報など幅広い内容を掲載しておりますので、是非当研究所ホームページをご利用ください。

<http://www.nrib.go.jp/>



3 講習開催のお知らせ

当研究所は、日本酒造組合中央会と共催で次の講習を実施します。つきましては、受講生を募集しますので、詳細はホームページをご覧ください。

(1)酒類醸造講習-清酒上級コース- (広島)

第107回 平成25年5月23日(木)～6月25日(火)

(2)清酒製造技術講習(東京)

第45回 平成25年5月13日(月)～6月21日(金)

第46回 平成25年8月26日(月)～10月4日(金)

<http://www.nrib.go.jp/kou/kouinfo.htm#gyoushuya>

4 メールマガジン登録のお願い

当研究所は、酒類販売管理に役立つ情報を中心としたメールマガジンをこれまで発行していましたが、今後は一般の方にもお楽しみいただけるよう、イベントや冊子発行などの情報を増やしていく予定です。是非、下のアドレスに空メール送信又はバーコード読み取りを行って、ご登録いただきますようお願いいたします。

ssn@m.nrib.go.jp



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、下記までお願いします。なお、ご意見やご感想も是非お寄せください。

企画編集 TEL：03-3910-6237

メールアドレス:joukou@nrib.go.jp

(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>