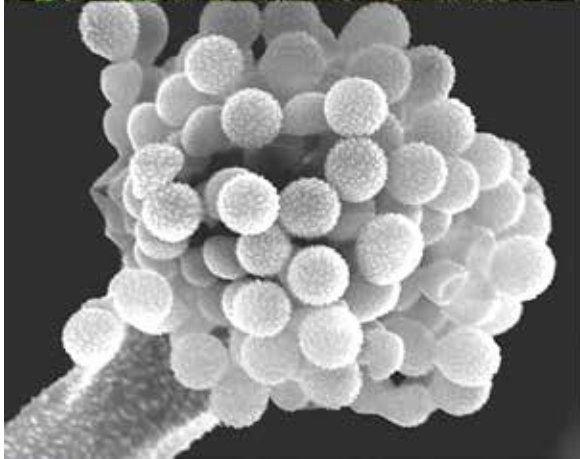


特集 黒麹菌ゲノム解析からわかること



黒麹菌は、沖縄の泡盛造りで古くから使われてきました。黒麹菌が生産するクエン酸は、もろみを強い酸性にするため、酵母以外の他の微生物の増殖を抑え、気温の高い地域でも健全に発酵を行うことができます。

明治の終わり頃には九州の焼酎製造にも使われるようになり、白麹菌（黒麹菌の突然変異株）とともに、現在では全国的に使用されています。

写真の説明

左上：培養した黒麹菌、右上：黒麹造り、左中：坂口謙一郎名誉教授「君知るや名酒あわもり」の碑（那覇市）、右中：甕貯蔵、左下：麹菌の電子顕微鏡写真

最近の黒麹菌研究

「麹菌」は酒類や発酵食品の製造に欠かせない微生物で、古くから私たちの生活と深くかかわっており、酒類総合研究所でも麹菌に関する研究に多方面から取り組んでいます。今回は醸造微生物研究部門の山田部門長から、最近の黒麹菌研究について聞きました。

✓ 酒類醸造と黒麹菌

－はじめに、黒麹菌について簡単に教えてください。

麹菌は、主に *Aspergillus* (アスペルギルス) 属 (以下A.と表記) に分類される微生物 (カビの仲間) で、分生子 (無性胞子) の色によって、黒麹菌、白麹菌、黄麹菌などに分類されます。国内の酒類製造ではあまり使われていませんが、紅麹菌 (*Monascus*属) という菌もいます。

日本酒 (清酒) の製造には黄麹菌が用いられるのが一般的ですが、黒麹菌や黒麹菌の突然変異株である白麹菌は大量のクエン酸を生産することにより、もろみの腐造を防止できるため、暖地での醸造にも適しており、焼酎や泡盛の製造で広く使われています。

なお、「泡盛」の原料としては、黒麹菌を用いた米麹を使用することが法令で定められています。



左から黒麹菌、白麹菌、黄麹菌とそれぞれの麹

✓ 黒麹菌の学名問題が決着

－黒麹菌に関する最近の大きな話題としては、2013年に学名問題が決着したことがあげられるでしょうか。

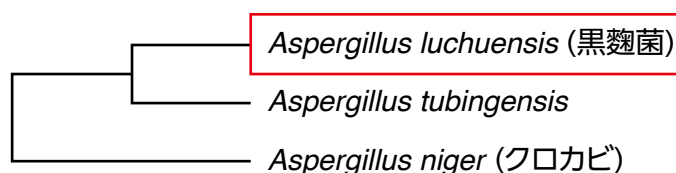
黒麹菌は、1901年に乾環氏により泡盛麹から分離されたのが最初で、琉球にちなんだ学名である *A. luchuensis* (アスペルギルス ルウチウエンシス) として報告されました。ところが、1913年に中澤亮治氏が分離した黒麹菌は先端の形状が一部異なっていたことから、*A. luchuensis*とは別種の *A. awamori* として報告され、国内ではこの学名が広く使われてきました。一方、海外では黒麹菌は *A. niger* (クロカビ) の一種であると考えられるなど分類や学名に混乱がありました。

そこで、当研究所保存の黒麹菌株や *A. niger*、醸造現場由来黒麹菌株、白麹菌株などについて遺伝子解析を行ったところ、これまで形態等によって付けられていた分類名とは関係なく、*A. luchuensis* (白麹菌も含む)、*A. tubingensis*、*A. niger* の3つに大別できることがわかりました (詳細は、NRIB第15号をご参照ください)。

2013年には、当研究所のほか、韓国やオランダの菌株保存機関、ハンガリーやデンマークの大学などの研究者で構成され

る国際研究グループが、菌の分類や学名に関して再整理・論文化を行ったことから、現在では、黒麹菌はこれまで考えられてきた *A. niger* の一種ではなく、違う生物種であること、また、その学名は *A. luchuensis* がふさわしいことが国際的に認められています。

この研究から得られた結果を活用して、現在、当研究所では「菌株が分類学的に黒麹菌 (*A. luchuensis*) に該当するか否か」について、受託による遺伝子解析を行っています。



遺伝子解析結果からわかった黒麹菌の近縁種

✓ 黒麹菌の安全性

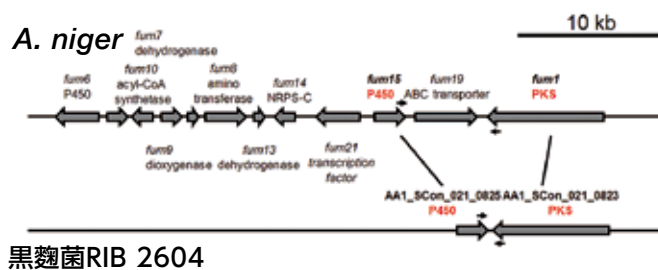
－以前海外では、*A. niger* と同じように黒麹菌もカビ毒を生産すると言われたことがありました。実際のところ、黒麹菌の安全性はどうなのでしょう。

結論から言うと、黒麹菌は安全です。

先ほど少し触れましたが、海外では黒麹菌は *A. niger* の一種と考えられており、また、*A. niger* は2種類のカビ毒 (オクラトキシンA、フモニシンB2) を生産することが知られていることから、黒麹菌の安全性には問題があるのではないかとされていた時期もありました。

さらに、ゲノム解析 (生物の持つ全遺伝子の総合的な解析) の結果からも *A. niger* はこれらのカビ毒を生産するための遺伝子のかたまり (クラスター) を持っていることが報告されており、黒麹菌の安全性を確認するためには、これらクラスターの有無が重要なポイントとなりました。

黒麹菌ゲノムの塩基配列の解読は、「黒麹菌ゲノム解析コンソーシアム」などが共同で行い、すでに2008年8月に終了し



A. niger でフモニシンB2生成に必要と予想されている12遺伝子 (上図矢印のうち、黒麹菌では大部分が欠けており、フモニシンB2が生産されない)。

ています。そこで、黒麹菌でもこれら2種類のカビ毒を生産するためのクラスタを持っているかどうかについて、黒麹菌ゲノムの塩基配列を網羅的に検索した結果、オクラトキシンAについては遺伝子が全く存在していないこと、フモニシンB 2についても合成に必要と予想されている12遺伝子のうち、配列の似た遺伝子が2つだけ存在していましたが、その他の遺伝子は全く存在しておらず、クラスタを持たないことが明らかとなりました。

また、このゲノム構造は、これまで解析した数十株の黒麹菌全てで保存されており、黒麹菌はゲノムレベルでカビ毒オクラトキシンAとフモニシンB 2を生産しないことが示され、安全性が証明されました。

✓ 黒麹菌ゲノム解析からわかること

ー2016年、黒麹菌のゲノム解析に関する論文が公開されました。ゲノム解析ではどのようなことがわかったのでしょうか。

前述のとおり、黒麹菌ゲノムの塩基配列の解読は2008年8月に終了していましたが、黒麹菌ゲノムを詳細に解析するため、酒類総合研究所を含めた全国17の大学・研究機関が共同で研究を行い、黄麹菌から遅れること11年、2016年ようやく黒麹菌ゲノム解析の論文が公開されました。

黒麹菌と*A. niger*のゲノムを詳細に比較解析したところ、これらの塩基配列の相同性は89%と推定され、ヒトとチンパンジーの塩基配列の相同性(96%)と比べて低いことがわかりました。これは、黒麹菌と*A. niger*は、ヒトとチンパンジーよりも進化的に遠いということを示唆しており、見た目はよく似ていても、ゲノムレベルでは大きく異なっていることを意味しています。

また、染色体レベルでも両者にはそれぞれ大規模な再編成や組換えが観察されたことから、ゲノム配列から見ると黒麹菌と*A. niger*とは別々の生物種であることがはっきりとわかる結果となりました。

その他に興味深い発見として、黒麹菌のゲノム中にも有性生殖に必要な遺伝子が保存されていたことがあげられます。動物でいうところのオスとメスがいるといったところでしょうか。

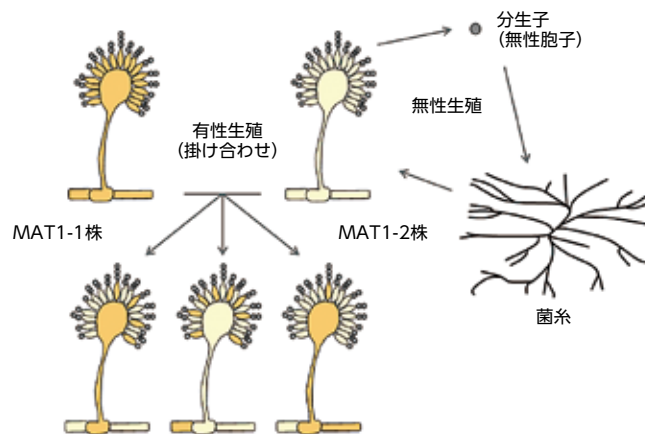
麹菌(*Aspergillus*属)には、これまで有性世代が見つかっておらず、分生子(無性胞子)による増殖のみが知られていました。今回、有性生殖に必要な遺伝子が保存されていることがわかったことで、「培養条件によっては麹菌も有性生殖を行うこ

とが可能」であり、将来的には黒麹菌同士の掛け合わせによって、泡盛をはじめとする焼酎の多様化につながる有用な菌株を育種することができるのではないかと期待を強く持つようになりました。

✓ 今後の黒麹菌研究

ー最後に、黒麹菌に関する研究について、今後の方向性や展望などを聞かせてください。

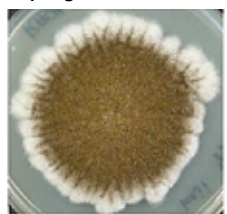
ゲノム情報をさらに解析したところ、黒麹菌はMAT1-1株とMAT1-2株との間で有性生殖を行うことも明らかになりました。ところが、これまで醸造に使われていた実用黒麹菌を調べたところ、なぜかMAT1-2株ばかりで、せっかく遺伝子があることがわかって有性生殖を行わせることができませんでした。かれこれ5年ほど探し回った結果、ようやく2016年、八丈島・青ヶ島から単離された黒麹菌の中からMAT1-1株を発見することができました。現在、これらの菌株を使って有性生殖が行えないか検討しているところです。



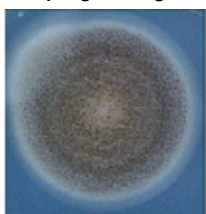
現在利用されている黒麹菌(白麹菌)はすべてMAT1-2株
MAT1-1株の発見により、今後の掛け合わせによる育種が期待される

また、黒麹菌はクエン酸を高生産してくれるという特徴がありますが、面白いことに醸造現場では麹造りの最後、仕舞仕事の時に温度を下げることで、このクエン酸生産量が増えることが知られています。しかし、残念ながらその仕組みについてはまだわかっていません。これは、黒麹菌の研究者がまだまだ少ないことが理由の一つではないかと考えています。ゲノム解析もようやく終わったことから、今後、より多くの人に黒麹菌に興味を持ってもらって、様々な切り口・様々な視点から黒麹菌研究が大きく進展することを願っています。

Aspergillus luchuensis



Aspergillus niger



ゲノムの
相同性

89%

人と
チンパンジー
96%

沖縄出身
泡盛・焼酎製造に利用
安全・安心
異臭なし

ヨーロッパ出身
クエン酸製造に利用
一部株にカビ毒生産性
土臭あり

黒麹菌と*A. niger*とは見た目のよく似た遠い親戚

昭和61年国税庁入庁。平成13年より酒類総合研究所勤務。黒麹菌のゲノム解析による学名の提唱や安全性の確認など、黒麹菌に関する研究を担当。醸造技術基盤研究部門副部門長、醸造技術応用研究部門長などを経て、平成28年7月10日より現職。

醸造微生物研究部門長

山田 修(やまだ おさむ)



1 研究成果の発表

日本農芸化学会2017年度大会（平成29年3月17～21日、於：ウェスティン都ホテル京都、京都女子大学）において老香関連遺伝子やカルバミン酸エチル分解酵素に関する研究など7題、平成29年度園芸学会春季大会（平成29年3月19～20日、於：日本大学生物資源科学部）においてブドウ果実中の成分と遺伝子に関する研究1題を発表しました。

なお、日本農芸化学会で発表したゲノム編集に関する研究が、「トピックス賞」に選定されました。

2 研究所講演会の実施

平成29年5月23日に東広島芸術文化ホールくらら（広島県東広島市）において、第53回独立行政法人酒類総合研究所講演会を開催しました。



後藤理事長の「酒類総合研究所の取り組み」に続き、「メタボローム解析で見る原料米品種、精米歩合、酵母菌株の清酒への影響」など4題の成果報告と、講師としてお招きした日本ソムリエ協会会長の田崎真也氏から、「ソムリエが日本酒を学ぶ重要性」と題した特別講演が行われました。

3 酒類製造技術の向上のために

日本酒造組合中央会との共催で、平成28酒造年度全国新酒鑑

評会及び第40回本格焼酎・泡盛鑑評会を開催しました。

製造技術研究会は、平成29年5月24日及び平成29年6月23日に行い、会場には、酒類業者を中心に多くの関係者が来場され、出品酒をきき酒しながら製造技術や品質の向上のための情報交換が活発に行われていました。



4 研究所で清酒造りを学ぶ

日本酒造組合中央会との共催で、第111回酒類醸造講習（清酒コース：5月16日～6月28日、清酒短期コース：5月16日～6月9日、短期製麹コース：8月28日～9月1日）を開催しました。当講習を修了された皆様の今後益々のご活躍を期待しています。



5 イベントへの出展

広島国税局主催のイベント「SAKE in 岡山」（4月10日）、「SAKE in 広島」（4月12日）に出展し、清酒のきき酒と楽しみ方、清酒の香り、清酒の造り方などについて来場の皆様からの質問にお答えしたほか、パンフレット類の配布などを行いました。



お 知 ら せ

1 日本酒を海外に伝えるために

海外の消費者に日本酒をわかりやすく紹介するために、A5サイズのリーフレットを作成しました。現在、英語、韓国語、中国語（繁体字）、中国語（簡体字）の4言語を用意しています。海外の方への日本酒の説明にぜひご活用ください。詳細は、当研究所ホームページをご覧ください。

http://www.nrib.go.jp/sake/sake_leaflet.htm

2 Sake Termsご意見募集中

輸出や訪日外国人への販売の際、清酒の専門用語をどのように英訳すればよいか困った経験はありませんか。

当研究所では、清酒の専門用語の標準的英語表現リスト(Sake Terms)を作成しています。今後の改訂に当たり、利用者の皆様のご意見を反映させたいと考えておりますので、ご意見・ご要望等ありましたらお寄せください。詳細は、当研究所ホームページをご覧ください。

http://www.nrib.go.jp/info/st_info.htm

3 お酒造りに必要な微生物を守るために

当研究所では、地方公設試、酒造組合、酒類製造業者等の皆様が

所有する麹菌や酵母などの酒類醸造微生物リソースが災害等によって亡失することを防ぐための受託保存(バックアップ)や、黄麹菌・黒麹菌の受託DNA解析を行っています。詳細は、当研究所ホームページをご覧ください。

<http://www.nrib.go.jp/data/zyutakuhozon.htm>

<http://www.nrib.go.jp/bun/kouzizyubun.htm>

4 皆さまのご意見をお寄せください

今後の誌面作成等の参考とするため、広報誌エヌリブに関するアンケートを実施しておりますのでご協力のほどよろしくお願い申し上げます。詳細は当研究所ホームページをご覧ください。

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

5 ご質問・ご相談はこちらまで

酒類に関する質問や、共同研究・試験醸造など技術的連携・支援のご相談などがございます場合には、以下までご連絡ください。

T E L : 082-420-0800 (代表)

E-mail : info@nrib.go.jp

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)

◆「エヌリブ」は当研究所ホームページからご覧になれます。
<http://www.nrib.go.jp/sake/sakeinfo.htm#kouhou>

◆本誌に関する問い合わせは、下記までお願いします。

なお、ご意見やご感想もお寄せください。

企画編集 TEL: 082-420-0840

メールアドレス : info@nrib.go.jp

(広報・産業技術支援部門 武藤、重田、藤井)