エヌリブ

酒類総合研究所広報誌

平成31年3月31日 第35号 年2回発行2019 3 31 No 35

NRIB³⁵

National Research Institute of Brewing

特集清

清酒酵母のなぞを探る



アルコール発酵能を有し、酒類醸造の中心的な役割を果たす酵母。長い酒造りの歴史の中で、それぞれの酒類 に適した酵母が選ばれてきました。清酒酵母には清酒造りに適した性質があります。これらの性質はどこから 来るのでしょうか。少しずつ解析が進むゲノム情報から、清酒酵母のなぞに迫ります。

左上:酒類醸造講習で酵母の培養を説明、右上:酵母を培養したプレート、左中:発酵初期のもろみ表面、左下:発酵最盛期のもろみ表面、 右下:生酛の酛すりの様子 (伝統的な清酒製造における酵母の育成工程のひとつ)



清酒酵母のなぞを探る

洒類醸造の要であるアルコール発酵を行う酵母。様々な性質をもった菌株があり、色々なお洒造りに活躍してい ます。近年の技術発達により、酵母の性質を決めるゲノム(注)の解析が着々と進められています。今回は、醸造微生物 研究部門の赤尾副部門長から、最近の清酒酵母に関する研究について聞きました。

√ 清酒酵母、特技は清酒造り

- 酵母とはどのようなもので、酒類の醸造にどう関わって いるのですか。

酵母とは単細胞の真核微生物の総称ですが、酒類醸造の 分野では、多くの場合はアルコール発酵能を持つSaccharomyces cerevisiaeを指します。その中にもたくさんの種類 があり、ヒトなどを含む真核生物のモデルとして使われる ものは実験室酵母と呼ばれ、遺伝学や細胞生物学、分子生 物学など様々な分野の研究で使用されています。

酒類醸造に使われるものは醸造用酵母と呼ばれ、その中 でさらに、清酒酵母、ビール酵母、ワイン酵母などに分類 されています。清酒、ビール、ワインなどお酒の種類ごと に発酵中の温度や糖分などの栄養環境が大きく異なるため、 それぞれに適した菌株が自然と選抜されてきたのです。

お酒の種類ごとに最適な酵母菌株があるのですね。

他の種類のお酒の醸造に使用できないわけではありませ んが、それぞれ得意な発酵環境があるということです。例 えば、清酒は原料に対する水の使用量が少なく、かつ「並 行複発酵」という方法を使用し、低温で仕込みます。この ような独特な発酵環境に適応できるということも、清酒酵 母には必要な性質です。

水稲が渡来した弥生時代にはお米のお酒が造られていた と推測されていますが、この頃は天然に存在する酵母がも ろみに入り込んで増殖したものを、それと知らずに利用し ていました。1895年に初めて清酒酵母が分離され、よう やく発酵が酵母によって起きること、酵母の菌株によって 発酵経過やできるお酒の性質が異なることが知られるよう になりました。その後、各地のもろみから酵母が採取・選 抜され、醸造特性の良い株は日本醸造協会から頒布される ようになりました。いくつもの菌株が頒布されてきました が、特にきょうかい7号酵母(K7。以後きょうかい○号酵 母をK○と表記します。) は分離から70年以上、最も古い K6は90年近く経つ現在でも広く利用されています。さら に、K7や近縁のK9、K10を基に育種された派生株も多く 得られており、これら(K7グループ)は今日の清酒酵母の 主流となっています。

✓ 清酒酵母に求められるもの

-現在主流の清酒酵母にはどのような特徴があるのでしょ うか。

今回はK7グループに着目してみましょう。近年のゲノム 解析により、清酒・焼酎酵母の遺伝的な系統関係が明らか になってきました(下図)。系統樹は、枝の先端がそれぞ れの菌株の位置を示していて、2つの先端間の枝を介した 長さが遺伝的距離(似ているかどうか)を表します。K7グ ループの塊は短い枝が密集していますね。つまり、互いに とても似ているのです。

一般的に、清酒酵母には発酵力が高いこと、製成酒の香 味特性が優れていることが求められます。私たちはこれま でに多くの酵母を用いて仕込試験を行い、菌株の特性を比 較してきました。すると、最終的なアルコール濃度はどの 株も大体同じでしたが、K7グループは全体的に酸の生成量 が少なく、吟醸香成分の生成量が多いことが分かりました。 このあたりの香味特性が、昭和期以降の清酒に対するニー ズに合ったのかもしれません。

また、実験室酵母との比較試験から、K7グループは清酒 もろみにおいて高濃度のアルコールを生成できる代わりに、 環境ストレス(高濃度アルコールを含みます)に弱いこと が明らかになっています。ゲノムデータベースを調べてみ ると、K7グループは環境ストレスに対処するための司令塔 の役割を果たすいくつかの重要な遺伝子に変異があり、そ の機能を失っていることが分かりました(詳細はNRIB19 号をご覧ください)。

パン酵母 実験室酵母 K7グループ以外の清酒酵母 ワイン酵母 焼酎酵母 現在主流の清酒酵母 (K7グループ) ウイスキー酵母 S. cerevisiae全体の系統図

エヌリブ 19 号(清酒酵母の機能と特性):https://www.nrib.go.jp/sake/pdf/NRIBNo19.pdf エヌリブ 24 号(美味しさを保つために):https://www.nrib.go.jp/sake/pdf/NRIBNo24.pdf

- 酵母がアルコールに弱いと、どのようなことが起こりま すか。

もろみ中のアルコール濃度が高くなると、アルコールに 弱い酵母は死滅してしまいます。酵母が死滅すると、細胞 からアミノ酸や酵素などの内容物がもろみに漏出するため、 製成酒の香味を害することになります。また、もろみ中の 酵母の死滅率が高くなると、できた清酒が貯蔵後に老香 (主成分はDMTS) を生じやすくなることも明らかになっ ています(詳しくはNRIB24号をご覧ください)。

酵母の死滅を防ぐために、多くの製造現場では慎重な発 酵管理をしていますが、アルコール濃度が高くても死滅しに くいアルコール耐性酵母を使用するのも一手です。その代表 が1975年にK7の自然突然変異体として分離されたK11です。

✓ アルコールに強くなった清酒酵母

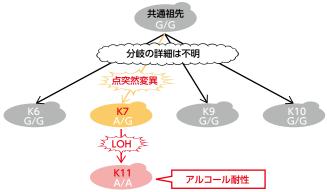
-K11はどのようにしてアルコール耐性を獲得したのでし ょうか。

K7とK11でゲノムを比較したところ、細胞の増殖に関係 するある遺伝子 (CYR1) の2066文字目 (CYR1²⁰⁶⁶) にたっ た1つの変異があり、それがK11のアルコール耐性に寄与し ていることを見出しました。清酒酵母のゲノムサイズは約 12 Mbase (1200万文字) ですが、そのうちのたった 1 文字 でアルコール耐性が大きく変わってしまうとは、驚くべき ことです。

もう少し詳しく説明しましょう。酵母はヒトなどと同じ 二倍体(2組の染色体セットをもつこと)で、一つの性質 に対して2セットの遺伝子を持っています。この2セット は同じ組み合わせ(ホモ接合)の時もあれば、違う組み合 わせ(ヘテロ接合)の時もあり、違う場合にはより影響の 強い方が性質として表れます。

K7とK11のゲノムデータベースを調べると、CYR1206がK7 ではA/G、K11ではA/Aという組み合わせになっていました。

(注) ゲノムとは、ある生物がもつ遺伝情報一揃いを指しま す。その中心となるのは、DNAです。生物のDNAは4種の 塩基(A、T、G、C)が並んで形成されており、タンパク質 の設計図となる領域や、タンパク質を作る量を制御する領域 などがあります。これらの領域ごとに名前が付けられ、「遺 伝子」と呼ばれます。



きょうかい酵母の系統分化とCYR1遺伝子の変化 共通祖先から分岐する中で、突然変異によりK7だけが CYR12066をA/Gの組み合わせで持つことになった。

CYR1206の場合、Gの影響が強く、両方がAになることで初め てアルコール耐性を獲得できるのです。このようにヘテロ接 合がホモ接合に変化する現象を「ヘテロ接合性の消失 (LOH) | といいます。有性生活環を失った醸造用酵母にと って、このLOHという現象は環境変化に適応するための、酵 母の生き残り戦略の一つであると捉えることができます。

ところで、前述のとおりK6~K10やこれらの派生株は、 お互いに近縁関係にあります。そこでK7以外のCYR12066を 調べてみたところ、K7以外はすべてG/Gの組み合わせにな っていました。もともと、K6~K10は同じ菌株を祖先とし、 比較的最近になって別々の菌株に進化したと考えられてい ます。おそらく、K7も最初はCYR1206がG/Gであったのが A/Gに変化し、さらにLOHによってA/AのK11が生まれた のでしょう。K7で見られるG/G→A/Gという変異は点突然 変異といい、ゲノム上のある位置に着目すると、起きる確 率は非常に低いものです。ごく低い確率で生じた1文字の 変異をきっかけに、K11はアルコール耐性の獲得に至ったの

現段階では、この変異によるアルコール耐性獲得の仕組 みについてはまだよく分かっていませんが、これが解明さ れれば、新しいアルコール耐性酵母の開発や、清酒以外の 分野への応用などに役立つかも知れません。

√ 今後の研究

- 最後に、清酒酵母の研究について、今後の方向性や展望 などを聞かせてください。

清酒酵母については、これまでにいろいろな菌株のゲノ ム配列を明らかにしてきました。現在は、これらを活用し て研究を進めており、菌株の系統関係や進化のメカニズム などが明らかになりつつあります。よく似た菌株同士をゲ ノムのわずかな違いから簡便かつ確実に判別する方法の開 発も進んでいます。もちろん、先に紹介したアルコール耐 性機構の解析も行っています。このほか、ある菌株のもつ 特徴が、ゲノム上のどの遺伝子の働きによって現れている のかを効率的に調べる技術や、ゲノムのごく一部を調べる だけで菌株の特徴を予測する技術などの開発を目指して試 行錯誤をしています。

こうして得られた成果のうち、お酒の製造現場で役立ち そうな情報があれば、講習会等を通じて積極的に発信して いくことで、現場での酵母の取扱技術のレベルアップを支 援していきたいと思っています。

平成5年国税庁入庁。平成9年より国 税庁醸造研究所(現・酒類総合研究所) 勤務。醸造用酵母のゲノム解析、発酵力 をはじめとする各種醸造特性指標に関す る研究などを担当。

研究企画知財部門主任研究員、情報技 術支援部門副部門長などを経て、平成28 年7月より現職。広島大学大学院統合生 命科学研究科客員教授。

醸造微生物研究部門副部門長

健(あかお たけし)











研究成果の発表

第70回日本生物工学会大 会(平成30年9月5日~7 日、関西大学) において黒 麴菌の学名など2題、平成 30年度日本醸造学会大会 (平成30年10月10日~11 日、東京大学弥生講堂)に おいて次世代酒米の醸造特 性解析など5題、日本ブド



ウ・ワイン学会2018 (平成30年11月17日~18日、 において赤ワインの初期低温醸しの結果など3題を発表しまし た。なお、平成30年度日本醸造学会大会で福田部門長と赤松主 任研究員が技術賞、赤尾副部門長が奨励賞を、日本ブドウ・ワ イン学会2018で清水主任研究員がポスター賞(写真)をそれぞ れ受賞しました。

2 EU 向け日本ワイン輸出に関する証明業務を開始しました

日EU経済連携協定の発効を受け、新たにEU向けに輸出され る日本ワインの証明書の発行業務、自己証明に関する業務を開 始しました。なお、日本ワイン以外のワインをEU向けに輸出す る場合は、これまで通り当研究所が発行する証明書及び分析報 告書が必要となります。

研究所で酒類製造を学ぶ

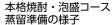
関係業界団体との共催で、第112回酒類醸造講習(ビール短期

コース: 平成30年10月29日~ 11月7日、本格焼酎・泡盛コ ス: 平成30年11月27日~12月 21日、ワイン短期コース: 平成 31年2月19日~22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。



ビール短期コース 酵母を発酵タンクへ添加する様子







ワイン短期コース 講義の様子

4 イベントへの出展

東広島市西条で開催さ れた「酒まつり」(平成30 年10月6日~7日) や「西 条醸華町まつり」(平成 31年3月2日) に出展し、 パネル展示や香り当てク イズなどを行いました。









全国新酒鑑評会を開催します

当研究所では、清酒の新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、もって清酒の品質向上に 資することを目的に、全国新酒鑑評会を行っています。詳細は、当研 究所ホームページをご覧ください。

https://www.nrib.go.jp/kan/kaninfo.htm

2 清酒・焼酎の専門用語の標準的英語表現リスト ご意見募集中

清酒・焼酎を英語で説明する際に参考にしていただけるよう、専門用 語の標準的英語表現リスト(Sake Terms、Shochu 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・ご要望などございましたらお寄せく ださい。詳細は、当研究所ホームページをご覧ください。

清酒 https://www.nrib.go.jp/sake/st_info.htm 焼酎 https://www.nrib.go.jp/sake/sht_info.htm

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 所有する麴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、黄麴菌・黒麴 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。

https://www.nrib.go.jp/data/zyutakuhozon.htm https://www.nrib.go.jp/bun/kouzizyubun.htm

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。

https://www.nrib.go.jp/sake/sakeinfo.htm#kouhou

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 https://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。 https://www.nrib.go.jp/sake/sakeinfo.htm#kouhou ◆本誌に関する問合せは、広報・産業技術支援部門までお願いします。 なお、ご意見やご感想もお寄せください。

> TEL: 082-420-0840 メール: info@nrib.go.jp (山根、重田、藤井)

