

## アミノ酸高蓄積実用泡盛酵母における

### 泡盛香味成分評価と比較ゲノム解析

塚原正俊<sup>1\*</sup>・鼠尾まい子<sup>1</sup>・笹野佑<sup>2</sup>・橋田恵介<sup>2</sup>・大津厳生<sup>2</sup>・

富木崇史<sup>1</sup>・當間士紋<sup>1</sup>・渡久地政汰<sup>1</sup>・東春奈<sup>1</sup>・高木博史<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>バイオジェット、<sup>2</sup>奈良先端大・バイオ)

\*株式会社バイオジェット 先端研究部

〒904-2231 沖縄県うるま市塩屋 351 電話・FAX: 098-979-3515

E-mail: tsuka@biojet.jp

Home Page: <http://www.biojet.jp>

酵母 *S. cerevisiae* は、食品をはじめとする様々な工業的発酵に用いられており、それぞれ多様なストレスに曝されながら有用機能を発揮している。これまでに、アミノ酸を高蓄積した酵母が、様々なストレスに対して耐性が上昇することを報告してきた。今回、これらの知見を産業酵母（酒造、パン、バイオエタノール酵母等）に応用することを目指した。

有用アミノ酸を高生産する産業酵母を用いて泡盛の小仕込み試験を実施し、発酵特性の解析と香味成分の網羅的分析を行った。その結果、プロリン・アルギニン代謝関連酵素（Pro1・Mpr1）の発現が泡盛香味成分の生成に影響を与えること、その影響は親株の種類により異なることなどを見出した。これらの結果は、酵母がアミノ酸高蓄積能を獲得しストレス耐性が高まったことで、醸造過程における酵母の香味生産能が高められたことによることが示唆された。さらに、実用泡盛酵母に対する EMS 処理によりアミノ酸高生産株を分離し小仕込み試験による、泡盛の風味成分の比較を行った。また、これらの酵母について次世代シーケンサによる全ゲノム解析を行うことで、実用酵母の有用形質に関する遺伝子の探索を進めている。

#### 1. はじめに

酵母 *Saccharomyces cerevisiae* はパン、酒類等の発酵食品、バイオエタノール等の製造に使用される重要な微生物であり、食品・バイオ燃料を中心に 8 兆円超と想定される巨大産業の主役を担う微生物である。

我々は、実験室酵母でのアミノ酸代謝に着目したストレス耐性機構を解析し、産業酵母（醸造、パン、バイオエタノール等）に応用することを目指している。

最近、パン酵母においてアミノ酸代謝が発酵力や耐久性に関与していることが明らかになった[1]。また、プロリン蓄積アルギニンおよび一酸化窒素合成に関与する Mpr1 の高機能型変異酵素[2]を発現するパン酵母において冷凍や高温乾燥に対する耐性が上昇することを明らかにした[3]。これらの成果は、様々な産業酵母にも応用できる有力なシーズであることを示唆している（図 1）。

今回、日本最古の蒸留酒である沖縄県の伝統酒「泡盛」に対して、本技術に応用することを試みると共に、次世代シーケンサを用いた網羅的ゲノム解析により形

質に関与する遺伝子の推定を進めた。特に泡盛醸造において酵母は、高アルコール、高クエン酸（低 pH）、高温等の強いストレス条件下で生産性の高いアルコール発酵を進めること、さらに良好な風味成分を生産することが重要である。

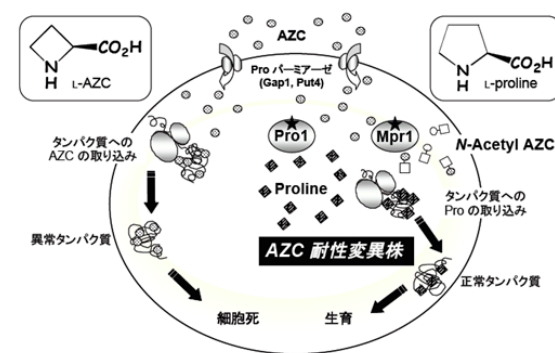


図 1. 酵母の AZC 感受性（左）・耐性（右）機構  
変異型 Pro1 または変異型 Mpr1 を発現する酵母細胞は AZC 耐性を獲得する。

## 2. 方法および結果

### (1) アミノ酸高蓄積実用泡盛酵母を用いた泡盛の香味成分評価

実験的に作製した有用アミノ酸を高生産する酵母を用いて泡盛の小仕込み試験を実施し、発酵特性の解析と香味成分の網羅的分析を行った。その結果、プロリン・アルギニン代謝関連酵素 (Pro1・Mpr1) の発現が泡盛香味成分の生成に影響を与えること、その影響は親株の種類により異なることを見出した。また、味認識装置を用いた分析から、味に有意な差異があること、アミノ酸高蓄積酵母を用いることで風味全体が増強していることが示唆された。この結果は、酵母がアミノ酸高蓄積能を獲得しストレス耐性が高まったことにより、醸造過程における酵母の香味生産能が高められたことによることが示唆された。

### (2) 泡盛実用酵母の突然変異体を用いたアミノ酸高蓄積の泡盛香味への影響評価

アミノ酸高蓄積実用泡盛酵母を用いた泡盛小仕込み試験を行い最終もろみを得た。得られたもろみ試料について、GCMS - SPME 法にて泡盛の主要香味成分を分析し親株との香味の違いについて比較評価を行った。

その結果、多くの泡盛主要香味成分に違いがみられた (図2)。このことから、アミノ酸高蓄積実用泡盛酵母の利用は風味の異なる泡盛醸造技術として確立できる可能性が示唆された。

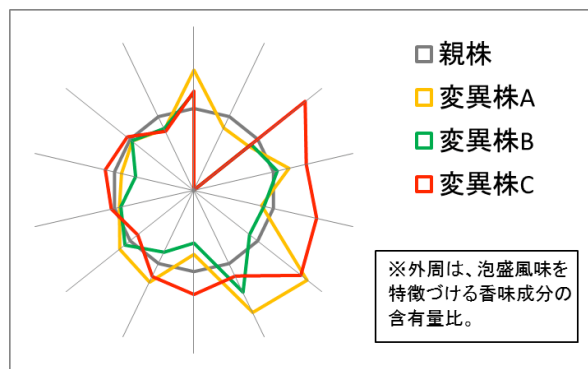


図2. 変異酵母による泡盛風味への影響

変異型 Pro1 または変異型 Mpr1 を発現する酵母細胞は AZC 耐性を獲得する。

### (3) アミノ酸高蓄積実用泡盛酵母の比較ゲノム解析

まず、泡盛実用酵母 101 号およびアルコール生成能が低い変異株について次世代シーケンサ SOLiD によるゲノムシーケンシングを実施し、比較ゲノム解析を行った。

その結果、101 号と比較して変異株では、菌株に特異

的な欠損領域および SNP が検出された。これらの変異がアルコール生産性に関与していることが示唆され、現在、さらに解析を進めている。

## 4. 今後の展望

我々は、酵母に機能性アミノ酸を蓄積させることで細胞のストレス耐性が向上することを見出し、産業酵母の育種への応用を展開している。本研究はこれら基盤的知見を泡盛醸造に活用し、酵母の高機能化により実用化の可能性を提示するものであり、酒質の差別化と製造工程の改良等が期待され、当該産業の発展に直結する有益な研究開発である。

泡盛を含む酒類では、個性的な風味への要求が高まっている。酵母は泡盛の酒質に深く関与しており、アミノ酸代謝系で生成される芳香成分も多い。本研究の育種戦略に基づく新たな酵母で製造する泡盛は、既存の泡盛と香味成分のバランスが異なり、味や香りの点で差別化できることから、事業化への実現性は高く、基盤研究成果を産業応用しうるシーズとして有用であると考えられる。

## 参考文献

- [1] 高木博史, et al.: 生物工学, 89, 8-12 (2011).
- [2] Sekine, T, et al.: Appl. Environ. Microbiol., 73, 4011 (2007)
- [3] Inoya, K, et al.: Biotechnol. Bioeng., 103, 341 (2009).