



Isolation and characterization of awamori yeast mutants with L-leucine accumulation that overproduce isoamyl alcohol

ロイシンの蓄積に伴いイソアミルアルコールを過剰生産する「泡盛酵母」の変異株の分離と特性解析

(JBB, Vol. 119, No. 2, 140-147, 2015)

高木 博史^{1*}・橋田 恵介¹・渡辺 大輔¹・那須野 亮¹
大橋 正孝²・伊波 朋哉³・鼠尾まい子³・塚原 正俊³

沖縄の伝統的蒸留酒「泡盛」の製造では、エタノール生産性の向上が蒸留コストの低減に直結するが、高濃度のエタノールは酵母の生育と発酵を阻害し、糖濃度の高いもろみは酵母にとって高浸透圧の環境である。また、冷却コストの点から高温での発酵が望ましいことから、泡盛製造の効率化には、高濃度エタノール・高浸透圧・高温などのストレスに耐性を有する酵母が必要である(図1)。一方、泡盛の主要な芳香成分である高級アルコール、エステル類は酵母の発酵過程で主にアミノ酸から生成される。これまで、泡盛製造にはエタノール生産性および芳香性の高い泡盛酵母(101株)が使用されており、育種に関する研究はほとんど行われていない。したがって、泡盛の製造工程の効率化、酒質の向上・差別化には、酵母の機能を高める育種技術が必要である。

筆者(高木)の研究室は、実験室酵母に見いだしたアミノ酸の新規な代謝制御機構と生理機能に着目し、実用化可能な産業酵母の育種を目指している¹⁾。これまでに、特定のアミノ酸を高生産する菌株を古典的な育種技術(突然変異導入)により効率的に取得する方法を考案し、種々の産業酵母の高機能開発に成功している。本稿では、泡盛の香味性を向上させる泡盛酵母の取得とその特性について紹介する。

清酒やパンの主要な香り成分として知られる酢酸イソアミル(i-AmOAc)とその前駆体のイソアミルアルコール(i-AmOH)は、L-ロイシン(Leu)の生合成に依存

して生成される。酵母のLeu生合成は、LEU4遺伝子がコードする α -イソプロピルリンゴ酸合成酵素(IPMS)の活性がLeuによるフィードバック阻害を受けることで調節されている。そこで、親株(101株)に突然変異処理を施し、Leuの毒性アナログである5,5,5-トリフルオロロイシン(TFL)に耐性を示す変異株の中から、親株に比べて細胞内のLeu濃度が高く、泡盛中のi-AmOH、i-AmOAc含量が増加した菌株(18-T55株)を取得した。18-T55株はLEU4遺伝子上に二つの変異(Ser542Phe, Ala551Val)があり、いずれのアミノ酸置換もTFL耐性、IPMSのフィードバック阻害解除、Leu蓄積を引き起こすことが判明した。また両残基は、IPMS内のLeu結合部位の近傍にあり、アミノ酸置換に伴う立体障害がフィードバック阻害解除の原因であると考えられた。本研究は泡盛酵母の育種としては初めての報告であり、アミノ酸アナログ耐性変異株の取得が育種に有効であることが実証できた。

実機醸造を行った結果、18-T55株はエタノール生成などに問題はなく、親株の良好な特性を引き継いでいた。香り成分としては、i-AmOH、i-AmOAcが増加していたが、他の成分も顕著に増加しており、LEU4遺伝子以外の変異によるものと考えられた。また官能評価では、フルーティーかつやや濃厚な風味との評価が得られた。以上の結果から、18-T55株は親株よりも香り高い泡盛の醸造が可能であり、「101H(ハイパー)酵母」と名付けた。101H酵母で製造した泡盛はブランデー様の甘さと果実様の華やかさが好評を博し、2016年5月に合名会社新里酒造より新商品「HYPER YEAST101」として販売を始めた(<http://www.shinzato-shuzo.co.jp/101/index.html>)。

科学者にとって、研究成果の実用化は大きな喜びである。今回、101株の開発者であり、筆者の思い(沖縄への貢献)を実現していただいた故新里修一前社長に対し、心からの感謝と哀悼の意を表します。

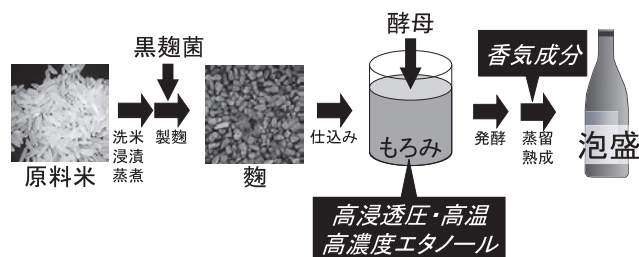


図1. 泡盛の醸造工程(シーエムシー出版「発酵・醸造食品の最新線」より転載)

1) 高木博史: 日本食品微生物学会雑誌, 31, 185 (2014).

* 著者紹介 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科バイオサイエンス専攻(教授) E-mail: hiro@bs.naist.jp
¹奈良先端科学技術大学院大学, ²奈良県産業総合振興センター, ³バイオジェット株式会社