

大吟醸麴の秘密はどこまで科学で探れるか？

醸造技術基盤研究部門 岩下 和裕

1. はじめに

「もやしは何グラムくらい振っていますか？」「盛の温度と時間はどうですか？」「どこのもやしを使っていますか？」これらの会話は、吟醸造りの議論で良く交わされる会話のパターンである。吟醸麴造りでは、一般に白米の吸水を抑え、麴菌孢子の散布量を抑え、破精回りを抑え、仲仕事から仕舞仕事、最高温度までの時間を短く、最高温度以降は 42℃以上の高温経過に持って行く。これは、麴菌 (*Aspergillus oryzae*) RIB128 株を中心とした製麴実験等の膨大な研究結果から、麴菌の菌体量を抑え、プロテアーゼ等の生産を抑え、十分なグルコアミラーゼ力価を得るためと考えられている。さらに、このような麴造りは、品質の良い清酒が出来るという経験に裏打ちされている。

しかし、一步踏み込むと解らないことだらけとも言える。例えば、大吟醸には大吟醸用の種もやしを使用するのが一般的だが、大吟醸用の麴菌株は、普通の酒母やもろみ用の麴菌とどう違うのであろうか？ また、使用するもやしの銘柄によって、温度の上昇や破精の回り方などが異なり、その後のもろみ管理や生成酒の特性が異なってくるが何故なのか？ 米の品種や精米歩合が異なると麴の特性は大きく異なるが、これはいったいなぜなのか？ このような根元的な疑問に迫るためには、科学的アプローチに頼るしか無い。ここ数年、ゲノム情報を基にしたゲノミクスやプロテオミクス、第4世代と言われるシーケンサーなど、バイオロジーの研究手法は格段の進歩を遂げている。では、このような革新的な科学的アプローチは、麴造りの本当の姿にどこまで迫れるのだろうか？ 現在得られつつある成果を含めて、科学が吟醸麴造りにどこまで迫れるのか議論をしてみたい。

2. 麴菌の設計図

生物の設計図は DNA である。この DNA 配列を読む基本技術は 1977 年に確立され、30 年あまり経過している。2000 年にヒトの DNA 配列が明らかになったことは大きなニュースとして取り上げられたが、麴菌については、RIB40 株の全ゲノム配列が 2005 年 12 月に公開され、新聞等でも報道された。麴菌の全ゲノム解析がスタートする前、我々は約 50 個の遺伝子の配列を明らかにしていた。しかし、全ゲノム配列が明らかになると、麴菌は約 10,000 遺伝子を有しており、ゲノム解析以前は 0.5%の遺伝子について解析したにすぎないことが明らかになった。また、麴菌の全遺伝子のうち約半数は機能がよくわからない機能未知の遺伝子であることも明らかになった。麴菌には、膨大な未知の領域、つまり、多大な可能性が残されていることが明らかとなった。麴菌が分離されて 130 年を経て、ようやく麴菌を丸ごと解析できる、麴菌研究の夜明けが来たといえる。

3. 麴菌を丸ごと解析する技術で解ってきたこと -ゲノム麴学の現状-

一般に、生物の全ゲノム情報を基に全遺伝子の発現、主要な生産タンパク質の解析を行うことを総称してポストゲノム研究とよんでいる。我々も、このような流れに即し、スタンダードな条件、かつプラントレベルで普通麴 (RIB128 株、精米歩合 70%日本晴) と、大吟醸麴 (吟醸用麴菌、精米歩合 40%山田錦) を作成し、全遺伝子発現が可能な麴菌 DNAchip と田中博士のノーベル賞で有名な MALDI-TOF MS 解析により生産タンパク質を同定し、ゲノムワイドな比較解析を行った。なお、本普通麴を使用した清酒は平均的な評価を得るとともに、本大吟醸麴を使用して醸成した大吟醸酒は、平成 18 酒造年度全国新酒鑑評会において金賞酒と同等の成績を収めている (参考出品)。

遺伝子発現については、盛、仲仕事、仕舞仕事、最高温度、出麴において経時的解析を行い、K-means法により比較を行ったところ、約3,500遺伝子に差が見られ、その中でも約500個の遺伝子の発現に非常に大きな差が見られた。また、出麴時のタンパク質生産の比較では、312個が再現性良く検出され、その半数に生産量の差が見られた。遺伝子発現で違いのあったものについては、機能未知のものも多く含まれていた他に、吟醸麴ではアミノ酸の取込や合成に関わる遺伝子が多く発現しており、普通麴では脂質の利用に関わる遺伝子群が多く発現していた。一方、タンパク質生産については、 α -アミラーゼとグルコアミラーゼの生産量が非常に多く、これらのタンパク質については両麴に大きな差は見られなかった。しかし、遺伝子発現の例と同様、機能が不明なタンパク質やアミノ酸の代謝や脂質の代謝に関わるタンパク質で違いが見られた。また、吟醸麴にはタンパク質生産等に関連するシヤペロンタンパク質が多く見られた。先の遺伝子発現解析の結果から、培養環境の認識（シグナル伝達）に関わる遺伝子群に比較的大きな違いも見られている。これらの遺伝子が大吟醸麴での遺伝子発現、タンパク質生産に関与している可能性は大きく、今後の解析対象として興味を持たれる。

4. ゲノム麴研究の未来

さて、これまでの解析結果により、普通麴と大吟醸麴の違いが明らかになり始めた。その特徴的な結果として、機能未知遺伝子の多くが実際に発現していたことが挙げられる。これらは、麴や清酒の品質に関わり、しかも新規の機能を有する可能性が大きく、今後の機能解析が重要である。特に、「麴」の重要な役割が酵素の供給であることから、生産タンパク質はまさに「麴の品質」そのものであり、酵母による発酵への影響や、酒質との関係を解析することが重要である。近年の研究から、遺伝子破壊も容易に行えるようになってきており、大規模な遺伝子破壊ライブラリーの作成も可能になってきたことから、今後、これらの遺伝子について多くの知見が得られるであろう。

では、吟醸麴と普通麴に見られた大きな違い、この違いを生み出す原因は何であろうか？ 今回の研究では、麴の実体を検証する目的で解析を行っている都合上、菌株や培養条件が大きく異なり、その両方の影響を受けていると考えられる。では、RIB128株と今回使用した吟醸用麴菌株のゲノム構造はどのくらい違っているのだろうか？ そこで、麴菌 DNAchip を使用しそれぞれの菌株のゲノムの比較解析を行ったところ、大幅に異なることが明らかとなった。では、菌株の違いと培養条件の違いはどちらが重要なのであろう？ ……………このように、解析が進むにつれ、新たに生じる疑問はより焦点が絞られ、はっきりと麴の実体に近づいていることが実感できる。

最近、第4世代シーケンサー、ギガシーケンサーとよばれる解析技術が出現し、全ゲノムスケールでシーケンスの違いを検出することが可能となりつつある。より詳細なゲノムの構造の違いをより多くの菌株で解析することが可能になるものと思われる。つまり、今回明らかになった遺伝子発現やタンパク質生産の結果を評価系として用いることで、詳細なゲノム構造の違いや菌株ごとに培養条件と「麴の品質」との関係を解析することが可能になると言える。

これに加え、「麴」の品質には、ビタミン等の低分子化合物も重要な寄与があるものと考えられるが、実際にはあまり多くの研究がなされていない。しかし、近年のキャピラリー電気泳動-質量分析機 (CE-MS) や液体クロマトグラフィー-フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析機

(LC-FT-ICRMS) などのメタボロミクス解析技術の進展により、網羅的な解析例が報告されはじめている。今後は、これらの低分子化合物と酒質の関係、さらには、各菌株のゲノム構造と遺伝子発現、タンパク質生産との関係を解析することが重要である。麴菌と麴の研究はまさに新しい時代に突入した。今後、これらの研究からどのような真の麴の姿、「本物の麴造り」が見えてくるのか非常に楽しみである。