

# 第4回 日本醸造学会若手シンポジウム 要旨集

平成24年9月27日(木)～平成24年9月28日(金)  
北とぴあ(〒114-850 東京都北区王子1-11-1)にて

## 第4回 日本醸造学会若手シンポジウム スケジュール

第1日目 9月27日(木)

ポスター発表、討論会、若手交流会(第2回醸造文化賞贈呈式・ポスター賞発表など)、合同合宿(事前参加希望者のみ)

\*14:00~17:00までの間は、日本醸造学会大会参加者であれば自由にポスターをご覧いただけます。17:00以降は若手シンポジウムの当日参加費をお支払いいただきます。

- 14:00~ 開場 (北とぴあ 14階カナリアホール)  
ポスター掲示、閲覧開始(ポスター発表者は15:00までには掲示を終えるようにして下さい)
- 16:00~ 受付開始  
事前に振込をお済みの方も受付の方をお願い致します。  
(若手シンポジウム当日参加費 一般 6,000円 学生 2,000円)
- 17:00~ ポスター発表、討論(奇数ポスター コアタイム45分)  
17:45~ ポスター発表、討論(偶数ポスター コアタイム45分)
- 18:30 ポスター発表、討論終了・ポスター賞投票、集計
- 19:00~ 若手交流会(北とぴあ 14階スカイホール)  
若手交流会では、第2回醸造文化賞贈呈式(ジョン・ゴントナー様)、ポスター賞の発表と表彰を行います。  
(若手交流会当日参加費 一般 3,000円 学生 1,000円)
- 20:30 交流会終了  
合宿参加者は、合同合宿会場(鳳明館)に移動します。
- 21:00~ 醸造学会若手の会 合同合宿スタート  
(合同合宿は当日参加ができませんのでご了承下さい)

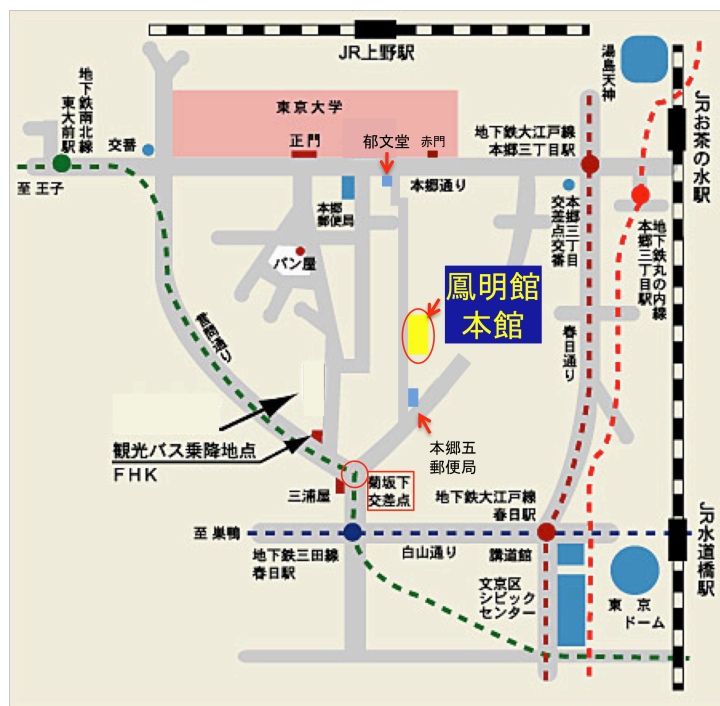
鳳明館本館 〒113-0033 東京都文京区本郷5-10-5

TEL: 03-3811-1181、URL: <http://www.homeikan.com/>

北とぴあからは、交流会終了後に運営委員が案内いたします。

- 東京メトロ: 丸の内線・都営地下鉄: 大江戸線: 「本郷3丁目駅」下車・徒歩10分
- 都営地下鉄: 三田線: 「春日駅」下車、A5、A6出口より徒歩5分
- 東京メトロ: 南北線: 「東大前駅」下車・徒歩10分

## 参考 鳳明館地図



第2日目 9月28日(金)

シンポジウム 北とぴあ14階カナリアホール

- 9:15～ 開場
- 9:30～ 若手の会総会 (北とぴあ14階カナリアホール)
- 9:45～ 講演1「日本酒の魅力の世界へ伝える」  
(第2回醸造文化賞受賞講演)  
Sake Evangelist (日本酒の布教者) /Sake World 代表  
ジョン・ゴントナー 先生
- 10:30～ 講演2「乳酸菌・酵母・酢酸菌の複合バイオフィルム形成とその利用」  
日本大学生物資源科学部 准教授 古川 壮一 先生
- 11:15～ - 休憩 -
- 11:25～ 講演3「若者は本当に日本酒が嫌い？」  
旭酒造株式会社 代表取締役社長 桜井 博志 先生
- 12:10～ 講演4「麹菌を用いた生命現象のなぜ」  
東京大学大学院農学生命科学研究科 教授 北本 勝ひこ 先生
- 12:55 閉会

## ポスター賞について

若手シンポジウムでは、**参加者全員の投票**によるポスター賞の授与を行います。ポスター賞は以下の二つで、選定方法は以下のとおりです。

### ポスター賞カテゴリー

醸造研究の未来を開く 醸造ベーシックサイエンス賞（ノーメル未来賞）

醸造技術をパワーアップする 醸造イノベーション賞（ノーメル技術賞）

\* 醸造エコノミー・マーケティング賞を予定しておりましたが、今回は発表者が無い  
ため、該当なしといたしました。

### 選定方法

1. 各ベストポスターの賞ごとに参加者全員が投票を行い、最も得票が多かったポスターを各ポスター賞とする。
2. 最高得点のポスターの投票数が同じだった場合、運営委員による決選投票を行い決定する。

## ポスター発表の方へ

1. ポスター発表場所は**北とぴあ 14 階カナリアホール**です。
2. **ポスターの掲示は 9 月 27 日（木） 14～15 時まで**に行っていただきますようお願いいたします。押しピン等は会場内に用意しております。係員にお伺い下さい。
3. ポスター発表は 17 時（醸造学会本会が終了次第）から始まります。時間が変更になっています。
4. **17 時 00 分～17 時 45 分までが奇数ポスター（P1, 3・・・）の討論時間**です。
5. **17 時 45 分～18 時 30 分までが偶数ポスター（P2, 4・・・）の討論時間**です。
6. ポスターは翌日の講演会でも掲示する予定です。ポスター発表時間が終わりました後も剥がさないで下さい。
7. ポスターは、**9 月 28 日（金）の講演会終了後に撤去して下さい。**もしこの時間での撤去が無理な場合には、その旨を運営委員までお伝え下さい。こちらで代わりに撤去し処理させていただきます。撤去の際、押しピンはボードに刺していただければ後ほど係が回収いたします。

## ポスター発表目次

P01 樽酒が料理の食味に及ぼす影響

○高尾佳史<sup>1</sup>、高橋俊成<sup>1</sup>、藤田晃子<sup>2</sup>、松丸克己<sup>2</sup>、溝口晴彦<sup>1</sup>  
(1:菊正宗酒造 総合研究所、2:酒類総合研究所)

P02 飲酒後呼気成分の酒類間比較

○葛西寛一、根来宏明、井岡勇児、石田博樹、佐原弘師、浪瀬政宏、秦洋二  
(月桂冠株式会社 総合研究所)

P03 酵素法による清酒のカプロン酸エチル簡易推定法

○栗林 喬、金桶 光起、平田 大<sup>1</sup>、渡邊 健一  
(新潟県醸造試験場、<sup>1</sup>広島大・先端研)

P04 5-リポキシゲナーゼおよびロイコトリエン生合成に及ぼす酒樽廃材由来スギ精油の阻害効果

○板井 啓、山田 翼、溝口 晴彦 (菊正宗酒造 総合研究所)

P05 麹菌の隔壁孔に局在する MAP キナーゼ AoFus3 と相互作用する新規タンパク質の機能解析

○矢萩 大貴、丸山 潤一、Özgür Bayram<sup>1</sup>、Oliver Valerius<sup>1</sup>、Gerhard H. Braus<sup>1</sup>、  
北本 勝ひこ  
(東大院・農生科・応生工、<sup>1</sup>ゲッティンゲン大学)

P06 黄麹菌の機能未知遺伝子の機能同定

○徳永奈央<sup>1</sup>、妹尾史子<sup>3,4</sup>、二神泰基<sup>2</sup>、竹川薫<sup>2</sup>、岩下和裕<sup>3,4</sup>、後藤正利<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>九大院・生資環、<sup>2</sup>九大院・農、<sup>3</sup>広大院・先端研、<sup>4</sup>酒総研)

P07 麹菌におけるオートファジー制御による異種タンパク質生産性の向上

○菊間 隆志、尹 載宇<sup>1</sup>、丸山 潤一、北本 勝ひこ  
(東大院・農生科・応生工、<sup>1</sup>啓明大学校・薬)

P08 超多酸性清酒酵母を用いたソフト清酒の醸造

○渡邊賢明、榊原舞子、根来宏明、小高敦史、中村幸宏、佐原弘師、石田博樹、  
秦 洋二  
(月桂冠株式会社 総合研究所)

- P09 白麹菌 *Aspergillus kawachii* における遺伝子工学実験宿主の開発  
○田代智史<sup>1</sup>、二神泰基<sup>2</sup>、梶原康博<sup>3</sup>、高下秀春<sup>3</sup>、大森俊郎<sup>3</sup>、竹川薫<sup>2</sup>、  
後藤正利<sup>2</sup> (1 九大院・生資環、2 九大院・農、3 三和酒類)
- P10 液胞プロトンポンプ関連遺伝子の過剰発現によりビール酵母はエタノールストレス耐性を獲得する  
長谷川園子、尾形智夫<sup>1</sup>、田中晃一、安藤 聡<sup>2</sup>、小川 順<sup>3</sup>、高木博史<sup>4</sup>、○島 純  
(京大・微生物科学、<sup>1</sup>アサヒビール醸造研、<sup>2</sup>農研機構食総研、<sup>3</sup>京大院農・応用生命、<sup>4</sup>奈良先端大・バイオ)
- P11 酵母のエタノールおよび有機酸ストレス耐性には芳香族アミノ酸チロシンが重要である  
○田中 晃一<sup>1</sup>、小松崎 典子<sup>2</sup>、藤原 しのぶ<sup>2</sup>、石井 由香里<sup>1</sup>、日比 慎<sup>3</sup>、小川 順<sup>4</sup>、  
島 純<sup>1</sup>  
(1 京大・微生物科学、2 聖徳大・人間栄養、3 京大院・農・産業微生物学・4 京大院・  
農・応用生命)
- P12 麦芽中のアスコルビン酸ペルオキシダーゼの性質  
○金内 誠 (宮城大学 食産業学部)
- P13 The Hydroxylation of Unsaturated fatty acid with Lactic acid Bacteria  
○鈴木 由佳 (宮城大学 食産業学部)
- P14 新規スクリーニング法によるエタノール耐性清酒酵母の原因遺伝子の探索  
○森中和也<sup>1,2</sup>、渡辺守<sup>1,2</sup>、赤尾健<sup>2</sup>、渡辺大輔<sup>2</sup>、下飯仁<sup>1,2</sup> (1 広島大院・先端研、  
2 酒総研)
- P15 清酒酵母の減数分裂に関する研究  
○清水頌平<sup>1,2</sup>、鈴木太郎<sup>1,2</sup>、渡辺大輔<sup>2</sup>、赤尾健<sup>2</sup>、下飯仁<sup>1,2</sup>  
(1, 広島大学大学院・先端研 2, 酒類総合研究所)
- P16 麹および液化麹末摂食による老化促進マウス認知症発症の予防作用  
○桑元康平<sup>1</sup>、吉崎由美子<sup>1</sup>、鈴木雅大<sup>2</sup>、奥津果優<sup>1</sup>、高峯和則<sup>1</sup>、鮫島吉廣<sup>1</sup>、叶内  
宏明<sup>2</sup> (1. 鹿児島大学農学部、2. 鹿児島大学共同獣医学部)

- P17 ヒストン脱アセチル化制御因子 AoHst4 による二次代謝生産制御に関する解析  
○廣瀬雅人<sup>1,2</sup>、河内護之<sup>1,2</sup>、岩下和裕<sup>1,2</sup> (1,広大院・先端研、2,酒総研)
- P18 サツマイモに含まれるモノテルペン配糖体の分布と品種間差の解析  
○吉竹一哉、高峯和則、吉崎由美子、山本優、鮫島吉廣 (鹿児島大学農学部)
- P19 高温液化麴に含まれる抗酸化物質の同定  
○草野辰朗、吉崎由美子、奥津果優、高峯和則、鮫島吉廣、橋本文雄  
(鹿児島大学農学部)
- P20 麴菌の破精込み評価システムの構築と破精込みにおける酸素の役割に関する研究  
○田島麻理恵<sup>1</sup>、稲葉繁樹<sup>1</sup>、丸山潤一<sup>2</sup>、北本勝ひこ<sup>2</sup>、北垣浩志<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>佐賀大学農学部、<sup>2</sup>東京大学大学院農学生命科学研究科)
- P21 米麴で高発現、高生産されている機能未知遺伝子の特性解析  
○井丸 直<sup>1,2</sup>、妹尾 史子<sup>1,2</sup>、寺戸 志保<sup>1,2</sup>、池田 優理子<sup>2</sup>、岩下 和裕<sup>1,2</sup>  
(1,広島大院・先端研、2,酒類研)
- P22 発酵大麦エキスがラットの肝臓脂質に及ぼす影響  
○和田 正太郎<sup>3</sup> (代理発表)  
梅木美樹<sup>1</sup>、岩崎美幸<sup>1</sup>、松本知大<sup>2</sup>、小田裕昭<sup>2</sup>、外菌英樹<sup>3</sup>、望月 聡<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>大分大・教育福祉、<sup>2</sup>名大院・生命農、<sup>3</sup>三和酒類(株))
- P23 エレクトロスプレーイオン化質量分析装置 (ESI-MS) を使ったフラグメントイオン  
解析による焼酎粕に含まれるスフィンゴ脂質の構造決定  
○平田みよ<sup>1</sup>、柘植圭介<sup>2</sup>、高橋宏志朗<sup>1</sup>、浦野義崇<sup>1</sup>、澤田和敬<sup>2</sup>、稲葉繁樹<sup>1</sup>、  
北垣浩志<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>佐賀大学農学部、<sup>2</sup>佐賀県工業技術センター)
- P24 DNP 耐性清酒酵母における有機酸組成改変株の取得  
○小杉 慎吾、中山 俊一、門倉 利守、中里 厚実 (東農大応生科・醸造)
- P25 GC/TOFMS による醤油の代謝物プロファイリング及び定量的記述分析法 (QDA)  
との相関の解析  
○山本慎也<sup>1</sup>、馬場健史<sup>1</sup>、佐野敦志<sup>2</sup>、小玉侑加子<sup>2</sup>、今村美穂<sup>2</sup>、小幡明雄<sup>2</sup>、  
福崎英一郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>阪大院・工・生命先端、<sup>2</sup>キッコーマン・研究開発本部)

**P26 LC-Q/TOF MS による分析法の開発と広範な清酒の解析**

○森 雄太郎<sup>1,2</sup>、豊浦利枝子<sup>2</sup>、徳岡昌文<sup>3</sup>、岩下和裕<sup>1,2</sup>

(1,広大院・先端研、2,酒総研、3, 東農大)

**P27 *Rhodococcus erythropolis* JCM3132 株の酸化的ピリミジン代謝における新規アミダ  
ーゼの同定ならびに代謝遺伝子クラスターの解明**

堀之内伸行、○松谷成裕、宋 子良、清水 昌、小川 順

(京大院農・応用生命)



## P01 樽酒が料理の食味に及ぼす影響

○高尾佳史<sup>1</sup>、高橋俊成<sup>1</sup>、藤田晃子<sup>2</sup>、松丸克己<sup>2</sup>、溝口晴彦<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>:菊正宗酒造 総合研究所、<sup>2</sup>:酒類総合研究所)

【目的】通常の日本酒にはない杉特有の爽やかな香りをもつ樽酒は、鰻などの脂っこい料理に合うとされてきた。しかし、これまでに樽酒と食品の相性は科学的に解明されていなかったため、樽酒が料理の食味に及ぼす影響を調べることにした。

【方法】官能評価は食品を摂取後本醸造酒または杉樽貯蔵した同清酒（樽酒）を飲用し、感覚強度を測定した。清酒と油脂間の界面張力は wilhelmy 法により測定した。旨味強度の測定は味認識装置 (Insent) を用いて行った。食品を蒸留水で懸濁、ホモジェナイズ後、遠心分離を行い上清を回収した。この上清に味覚センサーを浸漬後、清酒を用いて洗浄し、後味としての旨味強度を測定した。

【結果】油脂と樽酒の間の界面張力は本醸造酒に比べて有意に低下していた。また、食品の旨味後味は唾液を模した基準液に比べ、清酒で旨味強度が有意に高かった。この効果はうなぎのかば焼きやあさりの酒蒸しといった魚介料理やステーキなどで認められ、特に、魚介料理では樽酒でより顕著であった。これらのことから、樽酒は乳化能力が高いため、口中の油脂を洗い流してさっぱりさせやすく、さらに魚介類などの旨味を持続させる効果が高いことが明らかになった。

【Key words】樽酒、油、旨味

## P02 飲酒後呼気成分の酒類間比較

○葛西寛一、根来宏明、井岡勇児、石田博樹、佐原弘師、浪瀬政宏、秦洋二  
(月桂冠株式会社 総合研究所)

アルコール飲料摂取後の呼気において不快臭が発生することは広く知られており、この不快臭が近年のアルコール離れを引き起こしている一因であると推察される。しかし、飲酒後に生じる呼気成分の種類と量について、酒類間の定量的な比較はあまりなされていない。そこで、我々は酒類ごとの飲酒後呼気に含まれる成分とその含有量を解析した。摂取エタノール量が一定となるように清酒および他の酒類を飲酒し、飲酒 2 時間後および 5 時間後の呼気を捕集バッグへサンプリングした。呼気を固相吸着剤に吸着後、GC-MS/Olfactometry 分析へ供した結果、20 種類の成分が飲酒前と比べて増加する傾向にあった。そのうちのアリルメチルスルフィド (AMS) とメチルプロピルスルフィド (MPS) についてさらに詳しく解析したところ、飲酒後呼気中の AMS と MPS は酒類間で発生量に差が見られた。これらの結果から、飲酒するお酒の種類によって発生する不快臭の種類や量が顕著に異なることが示唆された。

【Key words】飲酒後呼気、アリルメチルスルフィド、メチルプロピルスルフィド

### P03 酵素法による清酒のカプロン酸エチル簡易推定法

○栗林 喬、金桶 光起、平田 大<sup>1</sup>、渡邊 健一  
(新潟県醸造試験場、<sup>1</sup>広島大・先端研)

GC法と酵素法、両者により清酒中の遊離脂肪酸を分析し、その結果をもとに、酵素法による清酒中のカプロン酸エチル濃度の簡易推定法の確立を目指した。試料清酒中の遊離脂肪酸組成をGC法により分析した結果、C6:0とC8:0が主要な遊離脂肪酸であった。実際、酵素法により測定した全遊離脂肪酸濃度は、GC法で測定したC6:0とC8:0の和に一致した。さらに、酵素法による全遊離脂肪酸濃度は、ヘッドスペースGC法によるカプロン酸エチル濃度と、高い相関性を示した。以上より、酵素法による試料清酒中の全遊離脂肪酸濃度の測定は、カプロン酸エチル濃度の簡易推定法として有効であることが示唆された<sup>1)</sup>。

1) Kuribayashi, T., *et al.* (2012) Analysis of free fatty acids in sake by an enzymatic method and its application for estimating ethyl caproate and selecting yeast with high productivity of the ester. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **76**, 391-394.

【Key words】清酒、カプロン酸、カプロン酸エチル

### P04 5-リポキシゲナーゼおよびロイコトリエン生合成に及ぼす酒樽廃材由来スギ精油の阻害効果

○板井 啓、山田 翼、溝口 晴彦  
(菊正宗酒造 総合研究所)

【目的】スギで作った樽に清酒を短期間貯蔵して、木香を着香させた清酒は樽酒として商品化されている。自社の場合、使用後の樽の多くは破棄されている。この杉樽廃材を有効的に再利用すべく、樽廃材から抽出した精油の機能性について検討した。

杉は古くから抗アレルギー作用を有しているといわれている。例えば杉の葉を煮出した「杉茶」は花粉症に効くとされ、民間療法として用いられる。そこで今回、スギ精油の抗アレルギー作用について検討した。

【方法・結果】抗DNP-IgE抗体で感作させたラット好塩基球性白血病細胞株(RBL-2H3)からDNP-HAS抗原刺激により放出されるロイコトリエン量とヒスタミン量を測定したところ、スギ精油にロイコトリエン遊離抑制効果が認められた。次に、*in vitro*において5-リポキシゲナーゼ活性を測定した結果、精油に顕著な阻害効果が見られた。他方、ヒスタミン遊離抑制作用と相関するといわれるヒアルロニダーゼ活性阻害効果はほとんど認められなかった。これらの結果、スギ精油は5-リポキシゲナーゼ活性阻害によりロイコトリエン遊離を抑制すると考えられ、香粧品等への応用が期待される。

【Key words】スギ精油、抗アレルギー、ロイコトリエン

## P05 麴菌の隔壁孔に局在する MAP キナーゼ AoFus3 と相互作用する新規タンパク質の機能解析

○矢萩 大貴、丸山 潤一、Özgür Bayram<sup>1</sup>、Oliver Valerius<sup>1</sup>、Gerhard H. Braus<sup>1</sup>、北本 勝ひこ  
(東大院・農生科・応生工、<sup>1</sup>ゲッティンゲン大学)

麴菌は多細胞生物であり、隣接する細胞は隔壁により仕切られているが、それにあいた小さな穴である隔壁孔を通じて細胞間連絡を行う。この性質は、ある細胞が溶菌した際に、隣接する細胞に溶菌が伝播する危険をもたらす。以前我々は、糸状菌特異的に存在するオルガネラ Woronin body が隔壁孔をふさぎ溶菌の伝播を防ぐ機能を有することを示した。しかし、これまでに、溶菌の伝播を防ぐための分子機構は断片的にしか解明されていない。我々は、麴菌の MAP キナーゼ AoFus3 が隔壁孔に局在し、溶菌の伝播を防ぐ機能に関与することを初めて明らかにした。さらに、TAP (Tandem Affinity Purification) タグを用いた精製により、AoFus3 と相互作用し、隔壁孔に局在するタンパク質を 2 つ同定した。これらをコードする遺伝子破壊株において、隣接する細胞に溶菌が伝播する割合が増加した。この結果は、AoFus3 遺伝子破壊株と同様の結果であった。以上のことから、前述の 2 種のタンパク質が隔壁孔で AoFus3 と相互作用することにより、溶菌の伝播を防ぐ機能に関与していることが示唆された。

【Key words】 麴菌、多細胞生物、細胞間連絡

## P06 黄麴菌の機能未知遺伝子の機能同定

徳永奈央<sup>1</sup>、妹尾史子<sup>3,4</sup>、二神泰基<sup>2</sup>、竹川薫<sup>2</sup>、岩下和裕<sup>3,4</sup>、後藤正利<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>九大院・生資環、<sup>2</sup>九大院・農、<sup>3</sup>広大院・先端研、<sup>4</sup>酒総研)

糸状菌に特異的に保存されている遺伝子の解析は、糸状菌独自の生命現象の解明につながるものとして期待される。本研究では、黄麴菌 *Aspergillus oryzae* のもつ糸状菌に特異的な機能未知遺伝子のうち、その遺伝子破壊株が細胞壁合成阻害剤に対して高感受性を示す 2 遺伝子 (AO080523000863、AO080569000108) の機能解析を目的とした。

まず、AO080523000863 破壊株は、菌糸が異常に膨らんだバルーン様構造を形成した。また、Vac7 ドメインをもつことから、FM4-64 染色による液胞観察を行った。その結果、バルーン内において野生株とは異なる液胞形態を示し、液胞形成に関与することが示唆された。一方、AO080569000108 破壊株は、菌糸伸長能および分生子形成能が低下した。また、細胞壁組成を分析した結果、アルカリ可溶性グルカンの減少と GlcNAc の増大が観察され、細胞壁の合成および維持に関与する可能性が示唆された。現在、これら 2 遺伝子の機能解明に向けて、相補による確認、EGFP 融合タンパク質発現による細胞内局在性および相互作用タンパク質の解析を行っている。

【Key words】 *Aspergillus*、細胞壁、液胞

## P07 麴菌におけるオートファジー制御による異種タンパク質生産性の向上

○菊間 隆志、尹 載宇<sup>1</sup>、丸山 潤一、北本 勝ひこ  
(東大院・農生科・応生工、<sup>1</sup>啓明大学校・薬)

麴菌は、高いタンパク質分泌能力と安全性から、異種タンパク質生産の宿主として利用されている。我々はこれまでに、異種タンパク質の分解に関与すると考えられるプロテアーゼ遺伝子を破壊することにより、生産量を増加することに成功している。一方で、オートファジーは、真核生物において細胞質成分やオルガネラを液胞に輸送し分解する細胞内分解機構であり、本研究では、オートファジーを制御することによって異種タンパク質生産での効果を検討した。オートファジー関連遺伝子の破壊株を作製し、異種タンパク質のモデルとしてウシ・キモシンの培地中への生産を行った。その結果、破壊株において野生株と比較し生産量が約 3 倍増加することを明らかにした。しかし、取得した遺伝子破壊株は、分生子をほとんど形成しないことから取り扱いが困難である。そこで、オートファジー関連遺伝子のプロモーターを条件発現プロモーターに置換することにより、十分量の分生子が回収可能な株を作製した。この条件発現株においても破壊株と同様に、ウシ・キモシン生産量の増加がみとめられた。以上の結果から、オートファジー制御による異種タンパク質高生産株の育種に成功した。

【Key words】 麴菌、オートファジー、異種タンパク質生産

## P08 超多酸性清酒酵母を用いたソフト清酒の醸造

○渡邊賢明、榊原舞子、根来宏明、小高敦史、中村幸宏、佐原弘師、石田博樹、  
秦 洋二  
(月桂冠株式会社 総合研究所)

近年消費者の嗜好の多様化に対応した様々な清酒が市販されている。「ソフト清酒」と呼ばれるアルコール度数が低い清酒もその一つである。ソフト清酒の製造法としては、発酵を早めに終了する方法や水で薄めてアルコールを希釈する方法があるが、前者は高濃度のピルビン酸によるジアセチル等のオフフレーバーの発生が、後者は香味が薄い清酒となる可能性が危惧される。そこで、我々は下記に示す超多酸性酵母を用いて濃醇な原酒を醸造することにより後者の問題点の解決を試みた。

(公財)日本醸造学会が頒布している有機酸生成能が高い No.77 のカナバニン耐性株を親株として、アゼチジン-2-カルボン酸耐性を付与した超多酸性清酒酵母を育種した。この変異株を用いて醸造した清酒をアルコール 10 度になるよう割水した試作品は、親株を用いた試作品と比較して酸度、アミノ酸度、グルコース濃度がそれぞれ 2.2 倍、1.5 倍、1.5 倍であった。このことから、我々が育種した超多酸性清酒酵母を使用することで、ソフト清酒の製造において割水により香味が薄くなる問題を解決できる可能性が示唆された。

【Key words】 ソフト清酒、アゼチジン-2-カルボン酸耐性株、超多酸性清酒酵母

## P09 白麹菌 *Aspergillus kawachii* における遺伝子工学実験宿主の開発

○田代智史<sup>1</sup>、二神泰基<sup>2</sup>、梶原康博<sup>3</sup>、高下秀春<sup>3</sup>、大森俊郎<sup>3</sup>、竹川薫<sup>2</sup>  
後藤正利<sup>2</sup> (1 九大院・生資環、2 九大院・農、3 三和酒類)

【目的】白麹菌 *Aspergillus kawachii* は、その高い糖質加水分解酵素とクエン酸の生産能力から異種タンパク質や有機酸の生産宿主としての利用も期待される。本研究では、*A. kawachii* における効率的な遺伝子工学実験を可能にする高頻度相同組換え株の開発を目的とした。

【結果・考察】まず、非相同末端結合に関与する *ligD* 遺伝子を破壊した。△*ligD* 株は通常の培養条件下において野生株と同様の表現型を示したが、DNA 損傷を誘導するメチルメタンスルホン酸に対して高感受性を示した。また、野生株における相同組換え効率は 0% であったのに対して、△*ligD* 株においては 90% に上昇した。次に、栄養要求性を付与するために *argB* 遺伝子および *pyrG* 遺伝子を破壊した。得られた △*ligD*△*argB* 株と △*ligD*△*pyrG* 株は、それぞれアルギニンおよびウラシル・ウリジン要求性を示した。取得した △*ligD*△*argB* 株および △*ligD*△*pyrG* 株は、それぞれ *argB* 遺伝子と *pyrG* 遺伝子をマーカーとして利用できる高頻度相同組換え宿主として、白麹菌の機能解析研究や分子育種に利用できる。

【Key words】*Aspergillus kawachii*、高頻度相同組換え、栄養要求性

## P10 液胞プロトンポンプ関連遺伝子の過剰発現によりビール酵母はエタノールストレス耐性を獲得する

長谷川園子、尾形智夫<sup>1</sup>、田中晃一、安藤 聡<sup>2</sup>、小川 順<sup>3</sup>、高木博史<sup>4</sup>、○島 純  
(京大・微生物科学、<sup>1</sup>アサヒビール醸造研、<sup>2</sup>農研機構食総研、<sup>3</sup>京大院農・応用生命、<sup>4</sup>奈良先端大・バイオ)

【目的と方法】ビール高濃度醸造において有用性の高いエタノール耐性ビール酵母を造成することを目的とした。本研究では、pH の恒常性の維持に重要な機能を担い、さらにストレス耐性との関連性が示唆されている液胞プロトンポンプ(V-ATPase)機能関連遺伝子群に着目した。始めに、各種遺伝子過剰発現株を作製し、エタノール耐性株を選抜した。続いて、選抜した菌株について発酵特性を評価した。

【結果】スポット試験によりストレス耐性を調べた結果、*DBF2*, *VMA41*, *RAV2* の各遺伝子過剰発現株では親株(野生型株)に比べ、エタノール耐性の向上が認められた。続いて、実用に即したビール発酵試験を実施したところ、各菌株とも親株に比べ、発酵能が有意に向上することが判明した。さらに、最も高い発酵能を示した *DBF2* 過剰発現株については、親株に比べ、発酵過程におけるエタノール産生量が有意に増加し、発酵後の生菌率もおおよそ 20% 上昇することが明らかとなった。以上の結果より、*DBF2*, *VMA41*, *RAV2* の各遺伝子過剰発現株は、実際のビール高濃度醸造にも耐えうる高度なエタノール耐性という有用形質を新たに獲得したことが示唆された。(本研究は、生研センター・イノベーション創出基礎的研究推進事業の一環である)。

【Key words】ビール醸造、液胞プロトンポンプ、分子育種

**P11** 酵母のエタノールおよび有機酸ストレス耐性には芳香族アミノ酸チロシンが重要である

○田中 晃一<sup>1</sup>、小松崎 典子<sup>2</sup>、藤原 しのぶ<sup>2</sup>、石井 由香里<sup>1</sup>、日比 慎<sup>3</sup>、小川 順<sup>4</sup>、島 純<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>京大・微生物科学、<sup>2</sup>聖徳大・人間栄養、<sup>3</sup>京大院・農・産業微生物学・<sup>4</sup>京大院・農・応用生命)

【目的】 醸造発酵過程で生じる様々な物理化学的ストレスにより酵母の有用機能は制限される。我々は酵母のストレス耐性機構を解析し、得られた知見を育種に応用することで発酵生産の効率化を目指している。

【結果】 近年、細胞内のアミノ酸プールが酵母のストレス耐性に関与することが示唆されている。我々は芳香族アミノ酸（トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン）合成欠損株の解析より、トリプトファンは冷凍耐性に、チロシンはエタノールや有機酸への耐性に極めて重要であることを見いだした。芳香族アミノ酸生合成の律速段階を制御する 3-デオキシ-7-ホスホヘプツロン酸（DHAP）合成酵素はフェニルアラニンとチロシンにより活性が負に制御される。このフィードバック抑制がおこらない変異型酵素を過剰発現させることで、チロシンを過剰生産する株を作成した。そのようなチロシン高蓄積株は野生型株がほとんど増殖できない高濃度の有機酸を含む培地でも増殖が可能であった。以上の結果より、チロシンを高生産・高蓄積する形質を利用することで新たなストレス耐性酵母を育種できる可能性が示唆された。

【Key words】 チロシン、エタノールストレス、有機酸ストレス

**P12** 麦芽中のアスコルビン酸ペルオキシダーゼの性質

○金内 誠（宮城大学 食産業学部）

【目的】 ビール醸造において、麦芽中に存在する酸化酵素は香味だけでなく、製造工程にも影響を与える。これまで、演者らは麦芽の酸化酵素の酵素科学的性質について検討してきた。（Kanauchi et al., *J. Inst. Brew.* 115, 232-237, 2009; *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 67, 89-94. 2009）本研究では、ペルオキシダーゼに着目し、発芽中の活性や局在、酵素科学的な検討を行った。

【方法】 大麦は脱皮処理後、1%次亜塩素酸ナトリウムで殺菌し、2mm ずつにスライスした。これを  $10^{-5}$ M Gibberellic acid 溶液を添加し、16°Cで放置した。また、全粒の大麦は浸漬/エアーストを繰り返し、6日間発芽させた。これらは凍結乾燥後、粗酵素を抽出した。活性は0.5mM アスコルビン酸-0.2mM 過酸化水素を含むリン酸緩衝液（pH 7.0）に酵素液を添加し、還元型アスコルビン酸の減少量を測定した。1Unit は、1分間に1mMのアスコルビン酸を酸化する酵素量とした。

【結果】 本酵素は胚乳に局在し、5日目まで活性は上昇した（1.47U/g）が、6日目では1.26 U/g と減少した。これは全粒大麦でも同様であった。本酵素は約 26 kDa のタンパク質であり、至適条件は pH5.5、50°Cであった。本酵素のアスコルビン酸に対する  $k_m$  は過酸化水素に比べ大きかった。また、2基質はランダムオーダーで反応することが推察された。

【Key words】 ビール、麦芽、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ

## P13 The Hydroxylation of Unsaturated fatty acid with Lactic acid Bacteria

○鈴木 由佳 (宮城大学 食産業学部)

【目的】不飽和脂肪酸は乳酸菌と酵母の働きによって桃の香りを呈する $\gamma$ -ラクトンに変換されると報告されている。これは、乳酸菌が不飽和脂肪酸をヒドロキシル化した後、さらに酵母がヒドロキシ脂肪酸を $\beta$ 酸化することで $\gamma$ -ラクトンへと変換される。しかし、乳酸菌が不飽和脂肪酸をヒドロキシル化するメカニズムに関しては、まだ不明確な点が多く、それらヒドロキシル化酵素についての報告はない。そこで本研究では、乳酸菌のヒドロキシル化酵素に関して検討を行った。

【方法】自然界から乳酸菌 179 菌株を分離した。分離した乳酸菌と酵母の混合培養 (0.1% オレイン酸添加培地) を行い、 $\gamma$ -ラクトン生成について検討を行った。 $\gamma$ -ラクトンの測定は GS/MS によって行った。また、スクリーニングした乳酸菌から粗酵素液を抽出し、Nitro Blue と PMS システムによるヒドロキシル化酵素の活性測定を行った。

【結果】自然界から分離した乳酸菌より、ヒドロキシ脂肪酸を生成する乳酸菌を 2 菌株選抜した。さらに、乳酸菌の菌体内酵素の至適 pH は 5.0 であった。

【Key words】乳酸菌、 $\gamma$ -ラクトン、ヒドロキシ脂肪酸

## P14 新規スクリーニング法によるエタノール耐性清酒酵母の原因遺伝子の探索

○森中和也<sup>1,2</sup>、渡辺守<sup>1,2</sup>、赤尾健<sup>2</sup>、渡辺大輔<sup>2</sup>、下飯仁<sup>1,2</sup> (1 広島大院・先端研、2 酒総研)

【目的】清酒酵母 きょうかい 7 号 (K7) はエタノールストレスに弱い酵母であるが、その自然変異株である K11 及び K7-126 は高濃度のエタノールストレスでも死滅しにくいエタノール耐性清酒酵母である。これらの酵母を使用した清酒もろみでは、発酵後期でも酵母が生存しているため高濃度のエタノールを生産することができる。しかし、その原因となる変異やメカニズムは同定されていない。そこで本研究は、次世代シーケンサーを利用した比較ゲノム解析結果からエタノール耐性の原因遺伝子の探索・抽出を試みる。

【方法・結果】「K11 と K7-126 に共通し、K7 とは異なる変異」という条件の下で全ゲノム SNP を対象とした新規なスクリーニングを行ったところ、主に 10 番染色体の左腕で K11 と K7-126 に共通するホモ SNPs の多型が確認された。さらにこの領域で K7 との間でミスセンスな多型を含む遺伝子を 44 個抽出した。次に必須遺伝子を除く 37 個の遺伝子を対象として実験室酵母遺伝子破壊株を用いてエタノール耐性試験による表現型スクリーニングを行った。その結果、K11 と K7-126 の表現型と相関のある 3 個の遺伝子を選抜した。

【Key words】清酒酵母、エタノール耐性、SNPs

## P15 清酒酵母の減数分裂に関する研究

○清水頌平<sup>1,2</sup>、鈴木太郎<sup>1,2</sup>、渡辺大輔<sup>2</sup>、赤尾健<sup>2</sup>、下飯仁<sup>1,2</sup>  
(1,広島大学大学院・先端研 2,酒類総合研究所)

酵母において1倍体の取得は、優れた特性を持つ菌株同士を交配育種し、より優れた菌株を取得するために重要である。しかし、清酒酵母の多くは孢子形成能が非常に低く、1倍体の取得に多大な手間を要する。

近年行われた清酒酵母きょうかい7号(K7)のゲノム解析の結果、実験室酵母において孢子形成能に関与すると考えられている遺伝子群の中で、減数分裂時に紡錘極体に局在し、前孢子膜形成に必要な *SPO74* 遺伝子の構造に欠損が見出された。この欠損は開始コドンにおける1塩基置換の変異により引き起こされており、清酒酵母を含む複数の実用酵母菌株において存在が確認された。*SPO74*の機能不全とK7の低孢子形成能との関係を知るために、正常な構造を有する *SPO74* をK7で発現させ孢子形成率を調べたところ、減数分裂が正常に進み、孢子形成能が大きく回復することを示唆するデータが得られた。また、実験室酵母BY4743の *SPO74* 遺伝子破壊株の孢子形成率を調べると、本来BY4743が有する孢子形成能が完全に失われていた。これらの結果から *SPO74* が孢子形成に大きく関与することは明らかであり、さらなる解析を行うことで清酒酵母の低孢子形成能回復につながると考えられる。

【Key words】清酒酵母、孢子形成、*SPO74*

## P16 麴および液化麴末摂食による老化促進マウス認知症発症の予防作用

○桑元康平<sup>1</sup>、吉崎由美子<sup>1</sup>、鈴木雅大<sup>2</sup>、奥津果優<sup>1</sup>、高峯和則<sup>1</sup>、鮫島吉廣<sup>1</sup>、  
叶内宏明<sup>2</sup> (1.鹿児島大学農学部、2.鹿児島大学共同獣医学部)

本研究では、マウスを用いて麴または加熱加工により抗酸化能が増強した高温液化麴(液化麴)の摂食による認知症の発症予防効果について検証した。実験は正常な老化傾向を示すSAMR1マウスと、老化とともに学習・記憶障害を発症するSAMP8マウスの2種類を用いて行った。いずれも8週齢雄マウスを使用した。白麴および液化白麴の乾燥粉末を通常食CE-2に0.5%(w/w)に配合した実験食を準備した。SAMR1(12匹)は実験期間中終始CE-2食を与え、コントロール群とした。SAMP8は3群(9匹/群)に分け、給餌飼料によりP8CE-2群、P8麴群およびP8液化麴群とした。実験食給餌開始3週間後にモリス水迷路実験により行動学的に学習・記憶能力を評価した。その結果、P8麴群およびP8液化麴群においてP8CE-2群に比べて学習・記憶能力低下の予防が認められた。その後さらに2週間飼育し、脳組織を採取した。脳組織におけるアミロイド繊維蓄積量はP8麴群およびP8液化麴群において海馬CA1およびDG領域でP8CE-2群より有意に減少していた。これらの結果から麴および液化麴が認知症の発症予防効果を有することが示された。

【Key words】認知症、SAMP8マウス



## P17 ヒストン脱アセチル化制御因子 AoHst4 による二次代謝生産制御に関する解析

○廣瀬雅人<sup>1,2</sup>、河内護之<sup>1,2</sup>、岩下和裕<sup>1,2</sup> (1,広大院・先端研、2,酒総研)

糸状菌の二次代謝産物 (SM) には多くの有用物質や有害物質が存在する。そのため、物質生産制御の面から SM 生産の制御機構が注目されている。近年、SM 生産制御においてヒストン修飾制御が重要な役割を担うことが報告された。これまでに、我々の研究室ではヒストンの抑制制御に関与するヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の解析を行ってきた。今回は SM 生産性について検討を行ったので報告する。

麴菌の HDAC が二次代謝制御に関わるか検討するため、コウジ酸の簡便なプレート検出法を用い、HDAC 遺伝子破壊株のコウジ酸生産性についてスクリーニングを行った。その結果、 $\Delta$ AoHos2 及び  $\Delta$ AoHst4 株においてコウジ酸生産量の増加が示唆された。そこで、両破壊株でコウジ酸の定量試験を行ったところ、 $\Delta$ AoHos2 株で約 30 倍、 $\Delta$ AoHst4 株で約 200 倍の増加が見られた。同時に、コウジ酸クラスターの遺伝子発現レベルを解析したところ、特に  $\Delta$ AoHst4 株で培養早期での遺伝子発現レベルの上昇が見られた。そこで  $\Delta$ AoHst4 株のペニシリン生産性についても解析したところ、ペニシリン生産量の増加、ペニシリン合成遺伝子の発現上昇が見られた。以上の結果から、AoHst4 はグローバルな SM 生産制御に関わる新規な制御因子であることが強く示唆された。

【Key words】 麴菌、二次代謝産物 (SM)、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC)

## P18 サツマイモに含まれるモノテルペン配糖体の分布と品種間差の解析

○吉竹一哉、高峯和則、吉崎由美子、山本優、鮫島吉廣 (鹿児島大学農学部)

[目的] 芋焼酎に含まれるモノテルペンアルコール (MTA) は、その前駆体であるモノテルペン配糖体が原料サツマイモに存在するが、サツマイモ中の配糖体濃度は調べられていない。本研究では二糖配糖体に作用する酵素と  $\beta$ -グルコシダーゼを併用した酵素処理で遊離した MTA (ゲラニオール、ネロール、リナロール、 $\alpha$ -テルピネオール) を定量し、品種および部位別のモノテルペン配糖体濃度を比較することを目的とした。

[方法] 蒸煮サツマイモは凍結乾燥後、粉碎し、これをペンタン・ジクロロメタン混合液で処理して遊離 MTA を除去後、メタノール還流により配糖体を抽出した。配糖体画分は酵素処理し、遊離した MTA を GC-MS で測定した。

[結果] 品種間解析の結果、肉色が橙および紫のサツマイモはモノテルペン配糖体濃度が全体的に高かった。特に紫色サツマイモはゲラニル配糖体、橙色サツマイモはゲラニル、ネリルおよび  $\alpha$ -テルピニル配糖体が多く含まれた。リナリル配糖体はサツママサリやジョイホワイトに極端に多く含まれた。また部位別解析によりモノテルペン配糖体はサツマイモの先端部と皮層部に多いことを明らかにした。

【Key words】 芋焼酎、モノテルペンアルコール、配糖体

## P19 高温液化麴に含まれる抗酸化物質の同定

○草野辰朗、吉崎由美子、奥津果優、高峯和則、鮫島吉廣、橋本文雄  
(鹿児島大学農学部)

[目的]我々は、麴そのものを機能性食材として捉え、その機能性を向上させる加工法を検討してきた。その結果、加熱加工法により作製した高温液化麴において抗酸化活性およびフェノール量の上昇が認められた。本研究では、作製した高温液化麴の抗酸化成分の同定を行った。

[方法]白麴を原料に作製した高温液化麴の液体部を様々なカラムに供し分画を行った。その際、抗酸化活性及び薄層クロマトグラフィー(TLC)を指標に分画、単離精製を行った。単離した成分の NMR 解析を行い構造を決定した。

[結果]本実験では分画した多くの画分が高い抗酸化活性が確認された。様々なカラムに順次供し、分離画分の中で抗酸化活性が高い画分を選抜し、最終的に活性画分に含まれる成分 E II の単離に成功した。NMR 解析によりこの成分 E2 は 5-ヒドロキシメチルフルフラール (HMF) であることが同定された。HMF は糖と有機酸存在下での熱反応によって生成されることが知られている。したがってこの物質が加熱加工法により増加した抗酸化成分の一つであることが明らかになった。

【Key words】 麴、抗酸化、単離精製

## P20 麴菌の破精込み評価システムの構築と破精込みにおける酸素の役割に関する研究

○田島麻理恵<sup>1</sup>、稲葉繁樹<sup>1</sup>、丸山潤一<sup>2</sup>、北本勝ひこ<sup>2</sup>、北垣浩志<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>佐賀大学農学部、<sup>2</sup>東京大学大学院農学生命科学研究科)

[背景・目的]麴菌(*Aspergillus oryzae*)の破精込み具合は麴の酵素活性に大きな影響を及ぼすが、近年杜氏の高齢化や酵母の変化に伴いそのノウハウが失われつつある。一方、麴菌の破精込み具合の客観的な指標はほとんどない。そこで新たな「破精込み評価システム」を構築し、麴菌の破精込みにおける酸素の役割を調べた。

[方法]下部を切断したガラスバイアル(以下バイアル)に切断した下部を接続しながら溶かした寒天培地を流し込み固めた後、下部の固まった寒天培地部分を切断した。培地の上部に麴菌を接種した後、バイアルの上部空間に窒素ガスを吹き込んで蓋を閉め嫌気的にして培養した。その結果、麴菌がバイアル下部の外側に開いた培地に向かって破精込んでいく「麴菌の破精込み評価システム」を構築できた。

[結果・考察]バイアルの外側に酸素があるときには麴菌は外側に開いた部分つまり培地の中に向かって破精込んだのに対し、外側に酸素がないときには培地の中に破精込まず上部空間の培地の表層のみに増殖した。この結果から、麴菌が培地に破精込むための因子として酸素が重要な要因であることが示された。

【Key words】 *Aspergillus oryzae*, hazekomi, koji

## P21 米麴で高発現、高生産されている機能未知遺伝子の特性解析

○井丸 直<sup>1,2</sup>, 妹尾 史子<sup>1,2</sup>, 寺戸 志保<sup>1,2</sup>, 池田 優理子<sup>2</sup>, 岩下 和裕<sup>1,2</sup>  
(1,広島大院・先端研、2,酒類研)

麴菌(*Aspergillus oryzae*) のゲノムシーケンス解析によって大半の遺伝子が機能未知遺伝子であり、その多くが糸状菌類に広く、保存されているとともに、米麴などで高発現することが明らかとなっている。これらの遺伝子群の解析によって、麴菌を含む糸状菌に特異的かつ新規の生物分子システムが発見できると考えられる。我々はこれまでに、糸状菌類に保存されている機能未知遺伝子群(*cff* 遺伝子)より、米麴での発現等の 147 遺伝子を対象に遺伝子破壊を行った結果、ホモ・ヘテロを含む 130 遺伝子の破壊成功株を得ており、最小培地での生育等を解析している。

本研究では、これらの破壊株ライブラリーを用いて、米麴などのモデルアッセイとして天然物培地プレート(米粉・小麦粉・大豆粉)を利用し、解析を行った。その結果、最小培地に比べて生育や分生子形成などが減少する破壊株や、ハローが減少する破壊株など、特徴的な表現型を示す遺伝子が見出された。現在、DNA 合成やタンパク質合成阻害剤等の阻害剤耐性試験を行っている。

【Key words】 Filamentous fungi, disruption, uncharacterized genes

## P22 発酵大麦エキスがラットの肝臓脂質に及ぼす影響

○和田 正太郎<sup>3</sup>(代理発表)、梅木美樹<sup>1</sup>、岩崎美幸<sup>1</sup>、松本知大<sup>2</sup>、小田裕昭<sup>2</sup>、  
外菌英樹<sup>3</sup>、望月 聡<sup>1</sup> (1大分大・教育福祉、2名大院・生命農、<sup>3</sup>三和酒類(株))

演者らは、大麦焼酎粕の水溶性画分である発酵大麦エキス (FBE) の生理機能として肝臓脂質への影響に着目して検討を行っている。これまでの研究により、FBE は、肝臓に脂質の蓄積を引き起こす高ショ糖食を投与したラットにおいて、脂質の蓄積を抑制する効果を有することを明らかにしている。しかしながら、この効果は、ショ糖を与えた場合に特異的なものかどうかは不明である。そこで本研究では、FBE が肝臓脂質に及ぼす影響について、炭水化物源の異なる食餌をラットに投与し、比較検討した。また、高ショ糖食における FBE の用量依存性についても検討を行った。

【方法】実験動物には Wistar 系雄性ラットを用いた。実験 1：飼料中の炭水化物源としてブドウ糖、ショ糖、デンプンの 3 種類を設定し、それぞれに FBE を 5.0% 添加した飼料を 7 日間自由摂取させた。実験 2：高ショ糖食に FBE を 1.25、2.5、5.0% 添加した飼料を 7 日間自由摂取させた。実験 1 及び 2 ともに飼育最終日に肝臓を得て分析に供した。

【結果】実験 1：ブドウ糖群およびデンプン群では、肝臓脂質の蓄積は認められず、FBE の投与による肝臓重量や肝臓脂質濃度に大きな変化は認められなかった。一方、ショ糖のみを投与した群では、肝臓脂質濃度が有意に上昇した。しかしながら、FBE を添加することによって、ブドウ糖群およびデンプン群と有意差がないレベルにまで低下した。実験 2：肝臓脂質濃度は、FBE の投与により用量依存的に低下し、5.0% FBE 群で有意に低下した。以上の結果から、FBE は、肝臓脂質の蓄積を伴わないブドウ糖やデンプンを食餌炭水化物源とした場合は、影響を示さず、肝臓脂質を著しく蓄積するショ糖を与えた場合には、肝臓脂質蓄積抑制効果を発揮するものと考えられた。また、その際、FBE は用量依存的に肝臓脂質の蓄積を抑制することが明らかとなった。

【Key words】 発酵大麦エキス、高ショ糖食、肝臓脂質

**P23** エレクトロスプレーイオン化質量分析装置 (ESI-MS) を使ったフラグメントイオン解析による焼酎粕に含まれるスフィンゴ脂質の構造決定

○平田みよ<sup>1</sup>、柘植圭介<sup>2</sup>、高橋宏志朗<sup>1</sup>、浦野義崇<sup>1</sup>、澤田和敬<sup>2</sup>、稲葉繁樹<sup>1</sup>、北垣浩志<sup>1</sup> (1佐賀大学農学部、2佐賀県工業技術センター)

【目的】スフィンゴ脂質はその保湿作用から、化粧品・保湿剤・機能性食品として潜在的に大きな市場性がある。一方、焼酎粕の高付加価値な有効利用策が求められている。そこで、焼酎粕に含まれるスフィンゴ脂質を検出して定量し、その分子構造を解析した。

【方法】PD 培地で液体培養した *A.kawachii*、70%精麦大麦麴 (*A.kawachii* を使用)、泡盛焼酎かす、大麦焼酎かすを用いた。試料からスフィンゴ脂質を抽出した後、TLC にスポットして展開し、その Rf 値から glucosylceramide を同定した。さらに分子構造を決定するためオープンカラムクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィーを用いて試料に含まれる glucosylceramide を精製し、ESI-MS を用いてフラグメントイオンを解析した。

【結果】焼酎粕には TLC により、2.2-3.3 mg/g (乾燥重量)の高濃度で glucosylceramide が含まれることがわかった。原料を変えた解析から、原料と麴菌に glucosylceramide が含まれていることが明らかとなった。その構造を決定するため、glucosylceramide を精製し、ESI-MS と衝突誘導乖離を使ってフラグメントイオンを解析した。Glucosylceramide は極性基の周りで開裂し、ceramide、glucosylsphingoid base、脂肪酸及びグルコースに相当する m/z を持つ分子種が観察された。それらの m/z をすべての分子種の分子構造と照合し、これらの分子構造を決定した。

【Key words】焼酎かす、glucosylceramide、ESI-MS

**P24** DNP 耐性清酒酵母における有機酸組成改変株の取得

○小杉 慎吾、中山 俊一、門倉 利守、中里 厚実  
(東農大応生科・醸造)

【目的】清酒酵母が生成するリンゴ酸やコハク酸等の有機酸は清酒の呈味を決定づける重要な因子の一つである。これらの有機酸はミトコンドリアで生成・代謝されることから、その活性を変化させることで有機酸組成の異なる酵母の取得が期待できる。そこで本研究では、UV 照射による変異処理後、呼吸阻害剤 2,4-dinitrophenol(DNP)に耐性能を示す変異株を取得することで、有機酸生成量の異なる清酒酵母の取得を試みた。

【方法及び結果】親株には清酒酵母 K901 を用いた。まず酵母の死滅率が 99.99%となるよう UV 照射条件を設定した。0.1mM DNP を含む最少培地(SD 培地)でスクリーニングし、90 株の DNP 耐性株を取得した。得られた 90 株を YM 培地(グルコース 10%)で 72 時間静置培養し、各有機酸生成量を測定した。有機酸生成量を親株と比較したところ、DNP 耐性株は多様な有機酸組成を示し、7つのグループに分類可能であり、有機酸組成が異なる清酒酵母の取得が可能であることが示された。

【Key words】清酒酵母、有機酸、呼吸阻害剤

## P25 GC/TOFMS による醤油の代謝物プロファイリング及び定量的記述分析法 (QDA)

との相関の解析

○山本慎也<sup>1</sup>、馬場健史<sup>1</sup>、佐野敦志<sup>2</sup>、小玉侑加子<sup>2</sup>、今村美穂<sup>2</sup>、小幡明雄<sup>2</sup>、  
福崎英一郎<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>阪大院・工・生命先端、<sup>2</sup>キッコーマン・研究開発本部)

これまでに醤油の違いにより、含有成分の違いがあることが示されているが、従来の分析法では限られた成分情報しか得られていない。醤油中の成分と品質の関係性を更に詳細に解析するためには代謝物個々のプロファイルとその代謝物が呈する官能的な特徴を把握することが極めて重要である。そこで本研究では、醤油の呈味性評価法の構築を目標として、QDA 法による官能試験と GC/TOFMS による代謝物プロファイリングを実施し、その相関を解析した。

サンプルは国内外の 24 種類の醤油を用いた。GC/TOFMS により得た親水性低分子化合物の代謝物プロファイルを説明変数、熟練パネルより取得した QDA データを応答変数として Projection to Latent Structure (PLS) により QDA データの予測を試みた。その結果、醤油の各 QDA データを高精度で予測可能だった。また、基本味とその後味の予測モデルにおいて高い VIP 値を示した重要成分はほとんどが糖類であり、醤油における基本味とその後味の形成における糖類の重要性を示唆した。

代謝物プロファイルと QDA を組み合わせた当該試行は、複雑な相互作用の上に成り立つ食品の官能特性解析に適用可能であり、呈味形成に重要な成分の探索に有用であると考えられた。

【Key words】 醤油、GC/TOFMS、QDA、多変量解析

## P26 LC-Q/TOF MS による分析法の開発と広範な清酒の解析

○森 雄太郎<sup>1,2</sup>、豊浦利枝子<sup>2</sup>、徳岡昌文<sup>3</sup>、岩下和裕<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>、広大院・先端研、<sup>2</sup>、酒総研、<sup>3</sup>、東農大)

【目的】近年、メタボロミクス技術による代謝物解析法が飛躍的に向上している。清酒中には、これまでに約 300 種類の成分が報告されているが、近年のメタボロミクス技術を用いた解析により、未報告の成分を含んでいる可能性が示唆されている。しかし、清酒のメタボロミクス技術分析法は十分には確立されておらず、広範な清酒に関する研究報告はない。そこで、LC-Q/TOF MS を用い清酒のメタボロミクス分析法を開発すると共に広範な清酒について解析を行った。

【方法・結果】清酒中の既知成分の中から物性ごとに 69 成分を選抜しモデル清酒を作製し、本モデル清酒および各標準品を利用して分析法の開発を行った。7 本のカラムを検討した結果、HSS T3 カラムを使用することとし、グラジエント条件、検出条件等を検討し、ピークが十分分離できる条件を決定した。続いて、本法により広範な製造法による 66 点の清酒の分析を行い、主成分解析を行った。その結果、製品表示基準でのグルーピングが可能であったが特定名称酒については、完全には分離されていなかった。また、ローディングプロット解析により寄与の大きいパラメーターとして、アルギニン、アスパラギン酸等が抽出された。

【Key words】 清酒成分、LC-QTOF、分析法

**P27** *Rhodococcus erythropolis* JCM3132 株の酸化的ピリミジン代謝における新規アミダーゼの同定ならびに代謝遺伝子クラスターの解明

堀之内伸行、○松谷成裕、宋 子良、清水 昌、小川 順  
(京大院農・応用生命)

【目的】酵素的塩基交換反応によるヌクレオシド生産の反応平衡制御に有用な *Rhodococcus erythropolis* JCM 3132 株のピリミジン分解系は酸化的分解経路である。この経路に関しては、ウラシル/チミンデヒドロゲナーゼ (UTDH)、バルビチュラーゼ (BAR) の作用によりウラシルがマロン酸とウレアに分解されることが報告されていた。しかし、BAR の精製を行なった際、BAR 反応生成物がウレイドマロン酸であることを見だし、さらなる分解には別の酵素が関与することを示唆できた (ウレイドマロナーゼ; UMase と命名)。そこで、この UMase の酵素・遺伝子レベルでの同定ならびに代謝遺伝子クラスターの解明を試みた。

【結果】本菌から UMase を精製し、得られた部分ペプチド配列情報を基にウレイドマロナーゼ遺伝子の同定を試みた。アミノ酸配列の解析結果から、本酵素が g-glutamyltransferase ファミリーに属し、*R. erythropolis* PR4、*Pseudomonas aeruginosa*、*Burkholderia ambifaria* の putative amidase と高い相同性を有することが示された。さらに JCM3132 株の酸化的ピリミジン系代謝遺伝子クラスターを解析し、これらの酵素群はピリミジン塩基により誘導され発現・機能することを酵素活性レベルで明らかにした。

【Key words】 amidase, *Rhodococcus erythropolis*, pyrimidine

講演 1 ((第 2 回醸造文化賞受賞講演))

「日本酒の魅力を世界へ伝える」

Sake Evangelist (日本酒の布教者) /Sake World 代表 ジョン・ゴントナー

\*私の日本酒への思い——導かれ歩んできた道。

\*日本酒の魅力を世界に伝える活動の紹介——

「奥深さ」と「こだわり」を他国・他文化の人々にどう理解してもらえるのか。

\*未来へのメッセージ——充実した、そして多様性のある日本酒を！

## 講演 2

### 「乳酸菌・酵母・酢酸菌の複合バイオフィーム形成とその利用」

日本大学生物資源科学部・食品生命学科 古川 壮一・森永 康

一般に、清酒や醤油などの東アジアの伝統的な発酵は固体穀物を原料として、固体を含む不均一かつ酸性の「もろみ」の状態で行われる。このようなプロセスでは、固体原料や容器表面に微生物細胞が付着して一種のバイオフィーム (Biofilm) のような状態となって発酵が進行していると推定される。また、伝統的発酵においては、乳酸菌と酵母を含む多種多様な微生物間の相互作用が重要な役割を果たしていると考えられるものの、それらの相互作用とその発酵全体への影響に関しては未解明な点が多い。

我々は、これまでに伝統的発酵食品である福山酢 (鹿児島県福山町にて古来より特殊な製法にて製造されてきた米酢) における微生物共生に関する研究に関して、特に複合微生物系バイオフィームに着目しながら研究をおこなってきた。ここでは、主に福山酢由来の乳酸菌と出芽酵母が形成する複合微生物系バイオフィーム形成についてのべながら、それを物質生産に利用することの可能性について論じたい。

我々は、福山酢もろみから分離した乳酸菌と酵母を対象にバイオフィーム形成を検討した。その結果、福山酢から分離された乳酸菌 (*Lactobacillus plantarum* ML11-11) と出芽酵母を共培養すると両菌の細胞で構成される複合バイオフィームを顕著に形成する組み合わせがあることが明らかになった。なお、当該複合バイオフィームの形成には乳酸菌と酵母の細胞同士の接着凝集が必要で、それは乳酸菌の表層のレクチン様タンパク質と酵母表層のマンナン糖鎖を介してなされるものであった。また、同様に酢酸菌も分離して乳酸菌との複合培養を行ったところ、ほとんど全ての組み合わせで酢酸菌のバイオフィーム (ペリクル) 形成が顕著に促進されること、またその促進は乳酸添加や酵母との共培養時にも起こることが明らかになった。ところで、酢酸菌 *A. pasteurianus* は、グルコースよりも乳酸やエタノールの資化速度が速いことが知られている。福山酢の発酵系では、壺の底面に形成された乳酸菌と酵母の複合バイオフィームによるグルコースのエタノールや乳酸への変換と、気液界面に形成された酢酸菌のバイオフィーム (ペリクル) によるエタノールの酢酸への変換が、共役している可能性がある。

現在、乳酸菌と酵母の複合バイオフィームを固定化菌体とするエタノール発酵について検討しているが、本複合バイオフィームを用いたリアクターは、長期間の連続発酵に適したロバスト性 (堅固な安定性) を備えていることが示された。乳酸菌と酵母の複合バイオフィームリアクターによって安定した連続運転が可能なのは、酵母細胞が固定化されて系外へ流出しにくくなったことと、乳酸菌の共存によってもたされる優れた雑菌排除能に基づくものと考えられる。

参考文献： ①古川壮一ら：化学と生物, 48, 8 (2010). ②古川壮一ら：日本生物工学会誌, 89, 478 (2011). ③古川壮一ら：日本生物工学会誌, 90, 188 (2012). ④古川壮一ら：日本生物工学会誌, 90, 197 (2012). ⑤古川壮一ら：日本醸造協会誌, 107, 292 (2012).



講演3

「若者は本当に日本酒が嫌い？」

旭酒造株式会社 代表取締役社長 桜井 博志

#### 講演4

### 「麹菌を用いた生命現象のなぜ」

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻 教授 北本 勝ひこ

麹菌 (*Aspergillus oryzae*) は、我が国で古くから日本酒、味噌、醤油などに使用されてきた産業上重要な微生物であり、「国菌」とも呼ばれている。麹菌は明治以来、多くの研究がなされているが、その多くが育種や麹製造方法などに関連するものであり、真核微生物である酵母に比べて、基礎的な研究は大幅に遅れていた。

2005年に完了したゲノム解析プロジェクトにより、現在では、全ゲノム情報を用いて酒造りにおける麹菌の働きを分子レベルで解き明かす研究成果も数多くえられている。また、酵母と同様な研究手法を適用できるツールも数多く開発されてきており、糸状菌がもつ生命現象を明らかにしようとする基礎的な研究も進められている。

本講演では、酒造りで活躍している麹菌を用いて、下記のような多細胞生物の生命現象の謎にせまる基礎的な研究成果に焦点をあてて紹介してみたい。

1. 緑色蛍光蛋白質を用いた麹菌の全オルガネラの可視化
2. 麹菌も光に応答する！
3. 細長い細胞を維持しながら先端生長する仕組みを支えるエンドサイトーシス
4. 麹菌の生存戦略として重要なオートファジー
5. 糸状菌特異的オルガネラ Woronin body の機能
6. 不完全菌である麹菌における有性生殖の可能性
7. 菌糸融合（いわゆる吻合）の重要性とその制御機構

上記の研究成果は、まだ、進行中のものも多く、「麹菌を用いた生命現象のなぜ」の全貌が明らかになるのは、まだまだ多くの時間がかかると思われる。

しかし、我が国の醸造のキー微生物である麹菌の生命現象のなぜを解き明かすことは、千年以上もの長い歴史をもつ醸造技術においても、大きなブレイクスルーにつながる可能性がある。次代の醸造を担う若い研究者との質疑応答を通して、我が国の醸造学における新しい視点が浮かんでくるような講演になれば幸いである。

## 醸造学会 若手の会の活動について

日本醸造学会 若手の会は、以下のような活動を通して、醸造学の研究を活性化させ、醸造学の進歩と発展のために積極的に貢献していきます。

1. シンポジウムの開催などを通して、醸造学を志す若手の研究者、技術者、経営者、学生など会員のパワーアップをはかるとともに、会員間の交流を積極的に進めます。
2. 未来の醸造学研究者である学生の皆さんに、醸造学に興味を持ってもらうための活動を積極的に進めます。
3. 醸造学を学ぶ世界各国の若手研究者等との交流にもチャレンジします。

我々の活動にご指導とご支援をよろしくお願い致します。

## 第4回日本醸造学会若手シンポジウム

### 第2期運営委員（順不同・敬称略）

運営委員長	堤 浩子	（月桂冠株式会社）
講演会運営	後藤 正利	（九州大学）
	北垣浩志	（佐賀大学）
	加藤 拓	（アサヒビール株式会社）
ポスター運営	高橋 理	（キッコーマン株式会社）
	島 純	（京都大学）
	丸山 潤一	（東京大学）
	村上 ゆみ	（大関株式会社）
広報担当	林 圭	（三和酒類株式会社）
	中島 俊治	（サントリーホールディングス株式会社）
事務担当	渡辺 大輔	（独立行政法人酒類総合研究所）
会計担当	金井 宗良	（独立行政法人酒類総合研究所）
アドバイザー	岩下和裕	（独立行政法人酒類総合研究所）

【メモ】

【メモ】

