

技術解説

酵母の育種開発およびその実施例

食品工業部 高峯 和則

1. はじめに

アルコール発酵能や高香気生成能などに優れた性質の酵母の育種開発法は、1)選抜・育種法、2)変異株の単離法、3)交雑・細胞融合法、4)遺伝子組み換え法に大別できます。

2. 各育種開発法について

(1) 選抜・育種法

この方法は、蔵付き酵母や鑑評会等で優秀な成績をおさめた醸造場のもろみから分離する古来からある方法で、特別な手法や試薬を必要とせず、操作は至って簡単でかつ低コストで行えます。しかし、目的とする性質の酵母を分離するには、数多くの酵母を集めが必要があり、かなりの手間と時間が要求されます。

この方法で得られた代表的な酵母は、清酒醸造用としては協会6, 7, 9, 10号があり、焼酎製造用としては協会SH4号、鹿児島工試酵母(Ko)、宮崎酵母(MK)などがあります。

(2) 変異株の単離法

この方法は、紫外線、エチルメタンスルフォネート等を用いて遺伝子に傷をつけることで人工的に突然変異を起こさせ、目的とする優れた性質の酵母を効率よく分離する方法です。しかし、強い変異をかけると本来もっている優良な特性を担っている遺伝子まで、変異が起こる可能性があります。

この方法で取得された代表的な酵母は、清酒用協会101号があります。

更に、変異処理した酵母や無処理(突然変異処理を行わない)の酵母から効率よく目的とする酵母を分離するために、カナバニンやp-フルオロフェニルアラニンなどの薬剤に対する耐性のある酵母を分離する単離方法があります。この方法で

高香気生成能の酵母の分離が容易に行えます。

ここで、なぜカナバニンに対して耐性のある酵母から高香気生成能の酵母が分離できるかについて詳しく以下に述べます。

焼酎などの香り成分である高級アルコールの生成は一般に、関連するアミノ酸の消費量の増加に比例して増大します。酵母の増殖に必要なアミノ酸量はほぼ一定であり、高級アルコール生成に関与するアミノ酸(例えば、ロイシンはイソアミルアルコール)の消費量を増大させるには、他のアミノ酸の消費を抑制する必要があります。アミノ酸の中でアルギニンは分子中に窒素原子を4個持っている最も有効な窒素源です。そこでアルギニンの菌体内に取り込む能力が低下した酵母を育種すると高級アルコール生成に関与するアミノ酸の取り込みが増大し、高級アルコール類の生成も増加するものと考えられます。カナバニンはアルギニンの構造類似体で酵母の生育を阻害する物質です。これを含んだ培地中でも十分に生育できる酵母は、カナバニンを菌体に取り込めない酵母であるため、この酵母はアルギニンの菌体内への取り込み能の低下した酵母といえます。この手法を用いた育種事例は数多くあり、佐賀県工業技術センターが開発した清酒用佐工試1号酵母や、当センターが開発した甘藷焼酎用酵母などがその一例です。

(3) 交雫・細胞融合法

この方法は、異なる特徴を有する酵母同士を一つの細胞にして優秀な性質を共有しつつ欠点を消した酵母の育種を行う方法で、胞子同士を接合させる交雫法と、細胞同士を融合させる細胞融合法があります。操作方法がさほど複雑ではなくまた、高価な試薬等も不要です。しかし、接合または融合した酵母が、離体培養を繰り返すことで、元の

性質の酵母に戻ってしまう危険性があります。細胞融合法による酵母の育種事例は多くの研究者によって発表されていますが、熊本県工業技術センターが育種開発した焼酎用酵母KF3酵母がその一例です。

(4) 遺伝子組み換え法

この方法は、確実に目的とする優れた性質の遺伝子導入や不要遺伝子の破壊が可能です。しかし、高価な設備と試薬が必要でかつ高度な技術が要求されます。また、遺伝子操作した微生物等を用いた食品に対するガイドラインが設置され、一般食品として認められましたが、消費者意識にある安全性などへの問題点のクリアなしには遺伝子操作による食品の開発は発展しないと考えられます。

この方法で進められている研究の一例を以下に示します。清酒や焼酎の製造では、澱粉を分解してブドウ糖を生成するための酵素（アミラーゼ類）を生産する麹菌とブドウ糖からアルコールを生成する酵母の2種類の微生物が関与しています。そこで、麹菌からアミラーゼ類を生成する遺伝子を取り出して、酵母の遺伝子にその遺伝子を組み込ませる（異種遺伝子導入法）ことによって、酵母のみでアルコール発酵が可能となります。この方法による育種事例はありますが、実用化には至っていません。

3. 当センターでの実施例

(1) 1)の選抜・育種法によって鹿児島県酒造組合

連合会との共同で、発酵温度35℃でも、発酵経過が良好でかつ、従来の酵母と比べてアルコール収得量が約3%高い酵母と、香りがソフトで軽い焼酎を造る酵母の2種類を分離することに成功しました。

(2) 2)の変異株の単離法によって秋田¹⁾の方法を

一部改変して、鹿児島酵母からカナバニンおよびp-フルオロフェニルアラニンに耐性のある酵母の分離を行い、得られた耐性酵母No.7およびNo.21を用いて大口酒造協業組合において甘藷焼酎の実施仕込み試験を行いました。表1に

示すように発酵終了後のモロミの分析値からIS2（大口酒造保有酵母）と遜色ない発酵が行われたことがわかります。焼酎に含まれる高級アルコール類はIS2と比べ2倍以上の生成量を示し、吟醸香である酢酸イソアミルおよび酢酸β-フェネチルは2~4倍量でした。官能評価の結果、No.7は香り華やかで、No.21は香り華やかで辛口タイプの焼酎でした。香り成分が増加したこと、甘藷焼酎特有の臭いがマスクされ、またロックで飲んでも香りが立つ焼酎の製造が可能となりました。

表1 実施試験の結果

	IS2	No.7	No.21
モロミ分析			
アルコール濃度(%)	14.1	14.2	14.4
試留酸度(ml)	1.12	0.66	0.73
残糖(%)	1.69	1.96	1.84
直糖(mg/100ml)	273.5	291.2	288.5
焼酎のガスクロ分析(mg/1)			
n-PrOH	87.7	136.7	119.7
i-BuOH	267.6	600.9	396.5
i-AmOH	269.3	587.6	479.2
Ac- <i>t</i> -AmOH	122.5	203.2	170.2
i-AmC ₂	6.3	23.1	14.8
C ₆ -Et	4.5	4.5	3.9
B-PheOH	75.1	79.5	78.3
B-Phe-C ₂	3.0	8.9	6.9

4. おわりに

酵母の育種開発法およびその実施例について簡単に述べました。4)以外の手法については当センターで行うことができます。不明の点がございましたらお問い合わせ下さい。

また、1)および2)の手法によって育種開発された酵母について試醸のご希望がございましたらご連絡下さい。

参考文献

- 秋田修：醸協、84、96（1989）