

2024年2月2日

報道関係者各位

国立大学法人 奈良先端科学技術大学院大学
株式会社 バイオジェット

沖縄の島バナナから酵母を単離し、 バナナの香り成分を高生産する新たな株の育種に成功！！ ～フルーティーな風味の新たな泡盛開発に応用～

【概要】

奈良先端科学技術大学院大学（学長：塩崎 一裕）研究推進機構 発酵科学研究所の高木 博史特任教授、磯貝 章太特任助教と沖縄県の株式会社バイオジェット（代表取締役：塚原 正俊）の共同研究グループは、沖縄で栽培される島バナナの茎から新しい酵母を単離し、その特性を解析するとともに、バナナの主要な香り成分である酢酸イソアミルを高生産する菌株の育種に成功しました。さらに、この菌株を用いて泡盛（沖縄の蒸留酒）を醸造することで、バナナの香りを含むフルーティーで豊かな風味を特徴とする品質の高い泡盛が商品化されました（商品名「ZANPA 島バナナ酵母」が有限会社比嘉酒造から2024年2月1日より販売開始）。

この研究成果は、2023年2月に発行された公益社団法人日本農芸化学会の英文誌 *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* に掲載されています。



【論文情報】

タイトル: Characterization of a new *Saccharomyces cerevisiae* isolated from banana stems and its mutant with L-leucine accumulation for awamori brewing

（バナナの茎から分離された新規な酵母および泡盛醸造用に育種したロイシン蓄積変異株の特性評価）

著者: 塚原 正俊¹、磯貝 章太²、東 春奈¹、塚原 恵子¹、豊川 洋一²、高木 博史²

¹株式会社バイオジェット、²奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科

責任著者: 高木 博史

掲載誌: *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **87**, 240–244 (2023).

DOI:10.1093/bbb/zbac185

【解説】

・研究背景

沖縄県の伝統的蒸留酒である泡盛は、県内食品産業の大きな柱ですが、近年は需要の減少傾向が続き、厳しい環境にあります。そのため、各酒造所では独自の商品開発や製造工程の改良が求められています。泡盛の製造には黒麹菌と酵母が用いられ、泡盛の風味や酒質に大きな影響を与えています（図 1）。特に、主要な香気成分（高級アルコール、エステル類）は醸造過程において、酵母のアミノ酸代謝によって生成されるものが多いため、泡盛の品質向上や差別化には、アミノ酸の生成量に特徴のある酵母の開発が重要です。

私たちはこれまでに、多くの泡盛に用いられている汎用酵母やハイビスカスの花から独自に単離した酵母を親株にして、清酒の吟醸香およびパンのバナナ香の主要成分である酢酸イソアミルの含量が増加した株を取得しました。また、これらの株を用いて醸造した泡盛は香味性が向上しており、多数の商品化に成功しました（新里酒造株式会社、神谷酒造所、有限会社神村酒造、南島酒販株式会社、株式会社池原酒造）（図 1）。

今回、泡盛のブランド化戦略として、沖縄で広く栽培され親しまれている島バナナに着目し、その茎からアルコール生産能の高い酵母を単離し、特性を解析するとともに、泡盛醸造に応用する研究を実施しました。

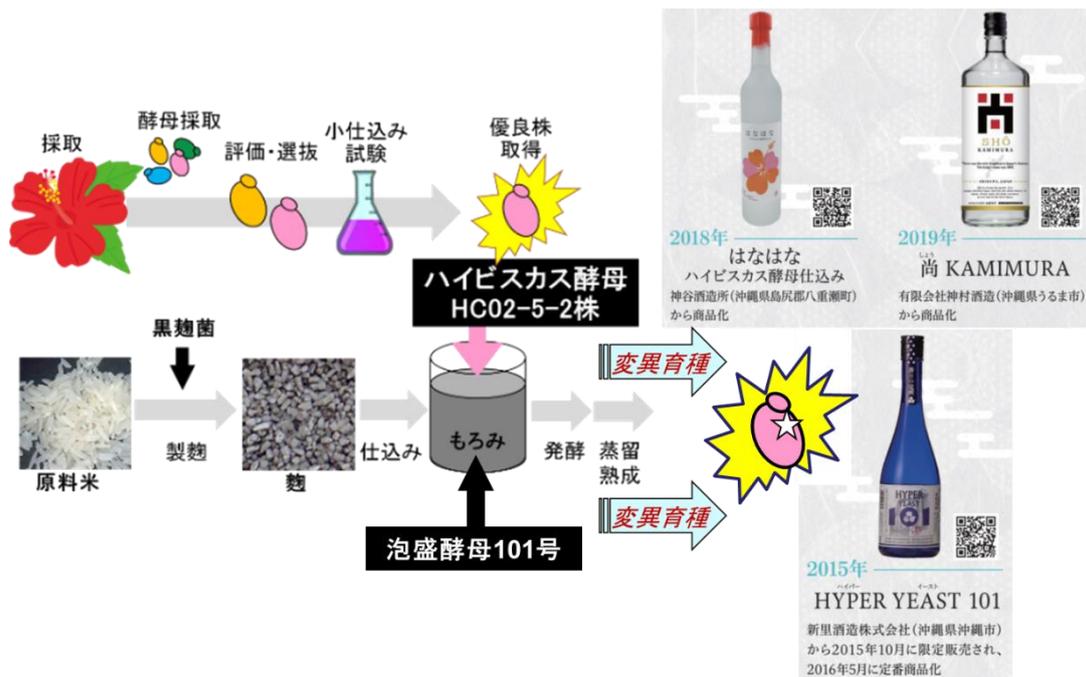


図 1 酵母の育種と泡盛の商品化

・研究内容

沖縄で広く栽培されている島バナナの茎から高いアルコール生産能を有し、泡盛醸造が可能な野生酵母（35a14 株）を単離しました。次世代シーケンサーを用いたゲノム解析の結果から、35a14 株は昔から酒類、パン類の製造に使用されているサッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) に属しているものの、従来の泡盛醸造に広く用いられている酵母（101 株）とは系統が大きく異なり、沖縄独自の株であることが示唆されました。また、35a14 株は泡盛の古酒（注 1）に含まれる主要な香気成分であるバニリンの前駆体（4-ビニルグアヤコール；4-VG）を高生産する一方、酢酸イソアミル（IAA）の生産量は低いことが分かりました。

IAA はアミノ酸の一つであるロイシン (Leu) の代謝中間体から合成されます (図 2)。このため、Leu を高生産する酵母では IAA も多く産生することが期待できます。そこで、35a14 株に紫外線照射による突然変異処理を施した後、ロイシンのアナログ (注 2) である 5, 5, 5-トリフルオロ-DL-ロイシンを含む寒天培地上で出現したコロニーの中から、親株に比べて細胞内の Leu 含量が高い変異株 (BNNL80 株) を取得しました (図 3A)。BNNL80 株には α -イソプロピルリンゴ酸合成酵素の遺伝子にアミノ酸置換 (Asp578Asn) を伴う変異があり、Leu によるフィードバック阻害に対する感受性が低下し、Leu が高生産されると考えられました。



図 2 ピルビン酸からのロイシンおよび酢酸イソアミルの合成経路
 BCAT : 分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素、DC : α -ケト酸脱炭酸酵素、
 ADH : アルコール脱水素酵素、AAT : アルコールアセチル基転移酵素

さらに、BNNL80株を用いて泡盛の小仕込み試験を行った結果、泡盛中のIAAは親株(35a14株)の3~5倍に増加していました(図3B)。一方、4-VG含量は親株の特徴を維持し、従来の泡盛酵母(101株)の約4倍を示しました。以上のことから、BNNL80株により101株に比べてIAAと4-VGの含量が高い泡盛の醸造が可能になりました。BNNL80株で醸造した泡盛は、バナナの香りを含むフルーティーで豊かな風味を特徴としており、2024年2月1日に「ZANPA島バナナ酵母」として有限会社比嘉酒造より販売が開始されました。

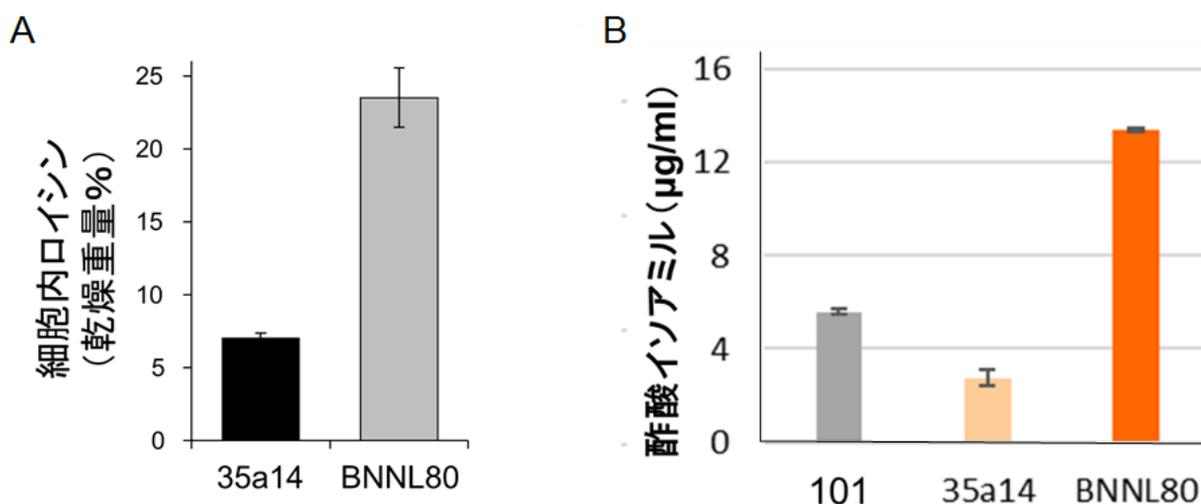
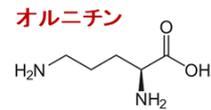
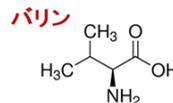
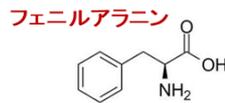
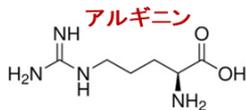
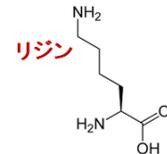
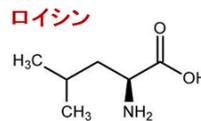
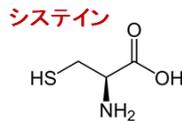
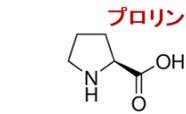


図3 細胞内のロイシン含量 (A) と泡盛中の酢酸イソアミル含量 (B)

【今後の展開】

以上の結果から、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析によって、酵母の醸造特性の背景となるゲノムの特徴づけができることが分かりました。また、本研究の手法は酵母だけでなく、有用な産業微生物の分類や育種にも応用が可能です。今後は、得られた知見を他の酒類(清酒、ビール、焼酎など)やパン類の製造に用いる酵母の開発に活用し、本研究成果を広く普及させたいと考えています。さらに、高木らはロイシン、プロリン、リジンなどの機能性アミノ酸を微生物で高生産させる育種技術を「アミノ酸機能工学」と命名し、微生物の高機能開発や微生物による有用物質の生産に応用できる技術としての確立を目指しています(図4)。

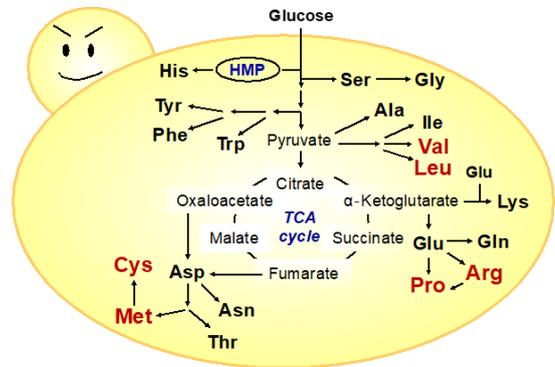
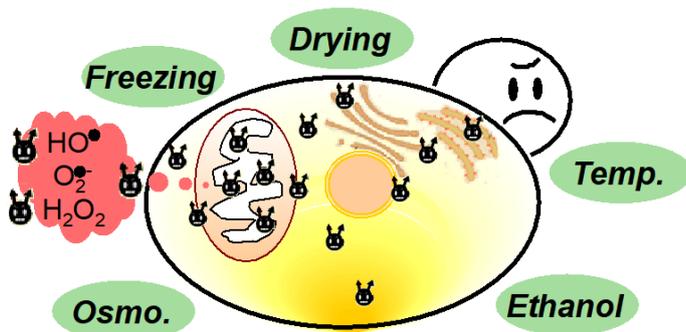
機能的性アミノ酸



発酵力の向上

味・風味の多様化

栄養強化・健康維持



機能的性アミノ酸を高生産する微生物の育種

アミノ酸機能工学

図4 アミノ酸機能工学

【用語解説】

(注1) 古酒：3年以上甕や瓶に入れて熟成させた泡盛のことで、「くーす」と呼ばれる。泡盛に含まれる成分が、長期熟成によって物理的・化学的变化を経て香味成分に変化し、まろやかで甘い香り（古酒香）を醸し出す。古酒香の主要成分はバニリンに由来するバニラ香である。原料米の細胞壁成分であるフェルラ酸が黒麹菌のフェノール酸脱炭酸酵素によって4-ビニルグアヤコールに変換された後、熟成によりバニリンに変化する。

(注2) アナログ：ここではアミノ酸と構造や性質が類似している化合物のこと。細胞内でアミノ酸と競合してタンパク質に取り込まれ、構造や機能が損なわれたタンパク質を生成することで、生育阻害・細胞死を引き起こすものもある。その場合、アナログを含む培地で生育する株（アナログ耐性株）は、対応するアミノ酸を高生産していることが多い。本研究ではロイシンのアナログとして、5,5,5-トリフルオロ-DL-ロイシンを使用した。

【お問い合わせ先】

<研究に関すること>

奈良先端科学技術大学院大学 研究推進機構 発酵科学研究室

特任教授 高木 博史

TEL : 0743-72-5601 FAX : 0743-72-5609 E-mail : hiro@bs.naist.jp

研究室紹介ホームページ : <https://www.naist.jp/iri/takagi/index.html>

株式会社バイオジェット

代表取締役 塚原 正俊

TEL : 098-979-3515 FAX: 098-979-3515 E-mail : tsuka@biojet.jp

会社ホームページ : <https://www.biojet.jp/gaiyou.html>

<泡盛に関すること>

有限会社比嘉酒造

研究員 中村 真紀

TEL : 098-958-2205 FAX : 098-958-3711 E-mail : info@zanpa.co.jp

会社ホームページ : <https://www.zanpa.co.jp/>

<報道に関すること>

奈良先端科学技術大学院大学 企画総務課 渉外企画係

TEL : 0743-72-5026/5063 FAX : 0743-72-5011 E-mail : s-kikaku@ad.naist.jp