

研究課題 (テーマ)		日本酒に含まれる DNA の網羅的シーケンスに基づく製造過程のモニタリング	
研究者	所属学科等	職	氏名
代表者	生物工学科	教授	西田洋巳
	成政酒造株式会社 生物工学科	取締役 助教	山田雅人 高橋裕里香
研究結果の概要			
<p>日本酒は酒米を麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> で糖化し、その糖を清酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> がアルコールにすることによって造られる(並行複発酵)。その製造はオープンな環境で行われるため、製造過程において、バクテリアなど多くの微生物が混入、増殖、死滅していると考えられる。そこで、日本酒を 150~300 倍に濃縮し、日本酒に含まれる DNA を抽出、精製した。その DNA の中より、バクテリア由来のものを PCR 増幅し、その増幅産物の塩基配列を決定した。これまでに 23 の日本酒(富山 A 社 12、富山 B 社 1、富山 C 社 1、愛知 D 社 1、岩手 E 社 1、岩手 F 社 1、岩手 G 社 1、岩手 H 社 1、秋田 I 社 1、岐阜 J 社 1、石川 K 社 1、福井 L 社 1) に対するバクテリア DNA の塩基配列データを取得し、多様性解析を行った。また、日本酒に存在しているバクテリア DNA の量を定量 PCR 解析によって調べたところ、異なる日本酒であっても、開封直後にサンプリングした際、一定量のバクテリア DNA が含まれていることがわかった。日本酒に含まれている一定量のバクテリア DNA に対する網羅的 DNA シーケンスの結果、異なる日本酒に含まれているバクテリア DNA の塩基配列は極めて異なっていることがわかった。例えば、同じ酒蔵で造られた日本酒であっても、そこに含まれるバクテリア DNA の種類は大きく異なっている場合があった。他方、多くのサンプルに頻繁に検出されたバクテリア DNA も存在しており、例えば、<i>Pseudomonas rhodesiae</i> や <i>Propionibacterium acnes</i> などは高い頻度で検出された。そこで、日本酒の製造過程のどの段階において、どのようなバクテリアが増殖、死滅しているかを明らかにするため、異なる製造過程の段階においてサンプリングを行った。まずは、「もと」「踊」「留」の段階からのサンプルを比較したところ、「踊」が最もバクテリア DNA が多様であり、「もと」と「留」ではバクテリアの菌叢が大きく異なっていることがわかった。また、開封後に 1 年間冷蔵庫で保管していた日本酒および量り売りで購入した日本酒に含まれるバクテリア DNA は、開封直後にサンプリングしたものよりも DNA 濃度が 30 倍以上高いことがわかり、その塩基配列を調べたところ、火落ち菌である <i>Lactobacillus fructivorans</i> の DNA が大量に含まれていることがわかった。このように、日本酒に含まれるバクテリア DNA を調べることによって、その日本酒の状態を知ることができること、さらに製造過程に生じたバクテリア菌叢の変化をモニタリングできる可能性を示した。</p>			
今後の展開			
<p>結果の概要に示したように、日本酒に含まれるバクテリアの DNA によって、製造過程に生じたバクテリア菌叢の変化を調べることができそうである。また、製造過程において、多くの種類のバクテリアが混入、増殖、死滅していることも明らかになった。今後は、どの製造過程の段階で増殖、死滅したバクテリアの DNA が日本酒にどの程度存在しているかを詳細に調べたいと考えている。そのためには、引き続き、成政酒造さんとの共同研究を行っていきたい。</p>			