



公立大学法人富山県立大学
News Release

事務局教務課

【本発表に関すること】

担当:情報研究係 中村
電話:0766-56-7500(内線)1229

【研究内容に関すること】

担当:生物工学科 教授 西田^{にしだ} 洋^{ひろみ}巳
電話:0766-56-7500(内線)1576

日本酒造りににおける蔵付きバクテリアの分離と
それらのゲノム解析

令和3年3月3日

富山県立大学工学部生物工学科の西田洋巳教授の研究室は、富山県南砺市の成政酒造株式会社との共同研究によって、日本酒造りの過程から複数のバクテリアを分離しました。それらの分離株の中において、アクチノバクテリア（放線菌のグループ）に属するコクリアが成政酒造に特有である「蔵付きバクテリア」であることを明らかにし、系統の異なる2つのコクリア分離株のゲノム塩基配列を決定し、遺伝子注釈付けを行いました。その結果、転移性の遺伝因子を介したゲノム改変が生じてきたことを強く示唆し、蔵付きバクテリアは長年にわたって日本酒造りの過程で混入と酒蔵への定着を繰り返すことによって、酒蔵および日本酒造りの環境に適応させてきたと考えられます。本研究成果は、「AIMS Microbiology」で公開しました。

1. 研究成果のポイントについて

- 酒蔵にはその酒蔵特有のバクテリア（蔵付きバクテリア）が住み着いており、日本酒造りの過程で混入し、一時的に増殖します。
- 蔵付きバクテリアは、日本酒造りの環境に適応するために、転移性の遺伝因子によって遺伝子情報を改変していることを強く示唆しました。

2. 研究の背景と経緯について

純米酒の瓶には原材料がラベルされており、米と米麴だけが記載されています。もちろん、水と酵母がなければエタノール発酵しませんので、それらも日本酒造りには必要です。しかし、単に水、米、米麴、酵母を混合すれば日本酒ができるわけではなく、それぞれのステップを経て造られることは言うまでもないことです。日本酒およびその造りは日本の伝統文化であり、今後も維持、継承されなければなりません。日本酒造りの科学的解明がそれに貢献できると考えています。

日本酒に含まれているDNAを調べると、多種多様なバクテリアDNAが検出できます。日本酒の中には生きているバクテリアはいませんが、DNAが日本酒造りの過程で混入した痕跡として残っています（Terasaki et al. 2017 Curr Microbiol 74:1432-

1437; Terasaki et al. 2018 *Curr Microbiol* 75:874-879)。同じ原材料を使用して日本酒が造られたとしても、酒蔵によって味や風味が異なっていることから、日本酒造りにおいて混入し、一時的に増殖していたバクテリアの中には、その酒蔵に特徴的な味や風味に關与しているものがあるに違いないと考えました。

日本酒に含まれるバクテリアDNAのデータベースおよび酒蔵、その酒蔵における日本酒造りの過程からのバクテリアの分離に基づき、富山の酒蔵の1つである成政酒造に特有である蔵付きバクテリアとしてアクチノバクテリアに属するコクリア属のバクテリアを分離しました (Terasaki and Nishida 2020 *Open Bioinf J* 13:74-82)。今回分離した成政酒造の蔵付きコクリアは種レベルで異なる2つの系統に分けられました。

これまでの日本酒造りにかかわるバクテリアの報告は、低GC含量グラム陽性のフィルミクテスに属する乳酸菌が大半です。少なくとも、日本酒造りにかかわる高GC含量グラム陽性のアクチノバクテリアの報告はありませんでした。そこでこれらの蔵付きコクリアのゲノム塩基配列を決めてその特徴を調べました。

3. 研究内容について

成政酒造の蔵付きコクリアは少なくとも種レベルで異なる2つの系統が存在していますので、それぞれの系統から分離株 TGY1120_3 および TGY1127_2 のゲノム塩基配列を決定しました。その結果、TGY1120_3 はクロモソームのほかに3つのプラスミドを持ち、TGY1127_3 はクロモソームのほかに1つのプラスミドを持っていました (図1)。これら4つのプラスミドには塩基配列の類似している領域を持っていることから共通の祖先を持っていると考えられました。また、1308塩基、435アミノ酸のトランスポゼースをコードする領域がTGY1120_3のクロモソームに2カ所とプラスミドの1つに1カ所、さらにTGY1127_2のプラスミドに1カ所に完全に塩基配列が一致して存在していました (図1)。これらのことは、異なる蔵付きコクリア間においてプラスミドを介した遺伝情報の水平伝播が生じ、細胞内においてもトランスポゾン介した遺伝情報の転移が生じていたことを示します。

すなわち、成政酒造の蔵付きコクリアは複数の系統で酒蔵に住み着き、日本酒造りの環境に適応するために異なる系統間において遺伝情報のやり取りをしてきたことを強く示唆しています。実際、分離株と近縁な既知種の至適生育温度が30°C~37°Cであるにもかかわらず、蔵付きコクリアは15°Cを至適生育温度としていることは、日本酒造りの温度である15°Cに適応したと考えられます。

また、それぞれのゲノムにおける違いもわかりました。例えば、エタノール耐性にはアルコール脱水素酵素がかかわっていると考えられますが、TGY1127_2には7つのアルコール脱水素酵素がコードされ、TGY1120_3には4つがコードされていることがわかりました。また、酸耐性に関わると考えられるウレアーゼをTGY1127_2は

持っているのに対して、TGY1120_3 は持っていないことがわかりました。このように同じコクリア属のバクテリアで日本酒造りの過程から分離された株であってもゲノム構成は異なっており、コクリアの集団として、転移性遺伝因子を介した細胞間および細胞内における遺伝情報の水平伝播によって日本酒造りの環境への適応を行っていると考えられます。

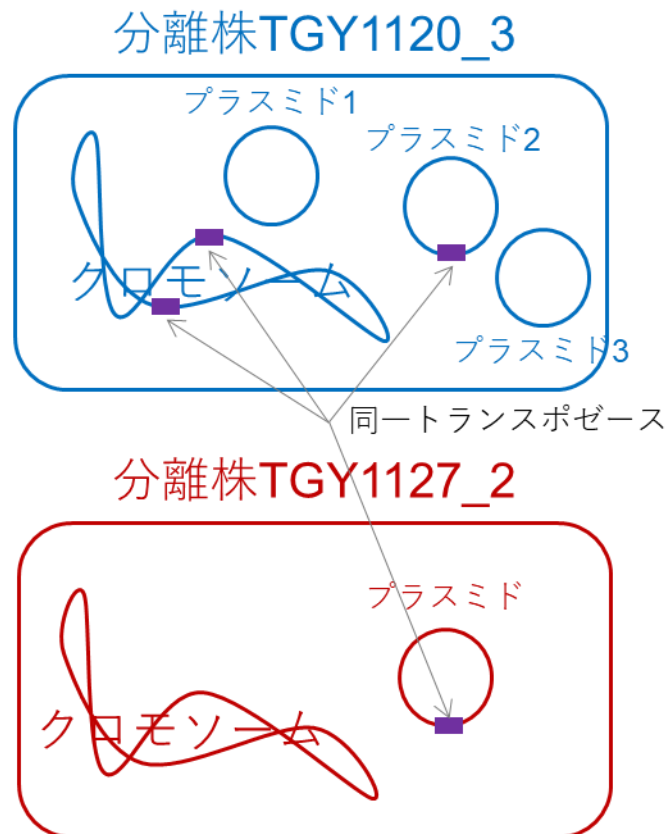


図1 ゲノム塩基配列がわかった成政酒造の蔵付きバクテリア（コクリア）

4. 今後の展開について

私たちは日本酒造りの過程からその酒蔵に特有であり、酒蔵に長年住み着いている、乳酸菌ではない蔵付きバクテリアを単離しました。日本酒造りには麹菌と酵母以外にも様々な微生物が関与していることが示唆されており、それらの微生物集団が日本酒の味や風味に関わっていると考えられます。酒蔵付きバクテリアが、その酒蔵の味や風味の特徴にかかわっている可能性が高いと考えています。その場合、異なる酒蔵間において蔵付きバクテリアを交換することによって、これまでにない味や風味の日本酒を造ることが可能ではないでしょうか（Nishida 2021 Front Microbiol doi: 10.3389/fmicb.2021.602380）。これまで、日本酒に混入するバクテリアは悪いもの扱いされ、排除される対象でしたが、私たちの研究結果によって、その存在が見直され、それを積極的に利活用した日本酒造りへのコペルニクスの転回ができるのではないかと考えています。

本学生物工学科応用生物情報学講座では日本酒造りの過程からの微生物のサンプリングに協力いただける共同研究先を求めています。お気軽にご連絡をいただけますと幸いです。

5. 論文の掲載について

- 公開日： 2021年2月26日
- 雑誌名： AIMS Microbiology
- 論文名： Genomic information of *Kocuria* isolates from sake brewing process
(日本酒造りの過程から分離したコクリアのゲノム情報)

● 論文情報

著者： 寺嵯桃香¹、木村友妃子²、山田雅人³、西田洋巳^{1,2}

所属： ¹富山県立大学大学院工学研究科生物工学専攻

²富山県立大学工学部生物工学科

³成政酒造株式会社

研究助成： 本研究は富山県の大学連携加速化プロジェクト支援事業に「日本酒に混入・増殖する微生物の利活用による機能性日本酒造り」のタイトルで2018年度および2019年度に採択され、その支援を受けました。

6. その他

本研究内容に関する問い合わせ先は以下の通りです。電子メールでご連絡ください。

富山県立大学工学部生物工学科応用生物情報学講座 教授 西田洋巳（にしだひろみ）

〒939-0398 富山県射水市黒河5180

電話： 0766-56-7500（内線1576）

電子メール： hnishida@pu-toyama.ac.jp