

酵母の関与で形成されるホップの品種特有香

蛸井 潔

(サッポロビール株式会社 商品・技術イノベーション部)

ホップはアサ科の多年生、蔓性、雌雄異株の植物であり、その雌株の球花がビール原料として用いられ、ビールに特有の苦味と独特の芳香を付与する。また、ビールの苦味成分であるイソ α 酸は抗菌作用を有し、ビールに高い微生物耐久性を付与するとともに、麦芽由来のたんぱく質により形成されるビールの泡を安定化させる効果もある。さらに、麦汁煮沸や発酵などのビールの製造工程において、過剰なたんぱく質を沈殿・除去し、ビールの清澄性を高める効果もある。まさにビールにとってはなくてはならない原料である。

従来、ホップはアロマホップ、もしくはビターホップ/高 α 酸ホップに分類されてきた。アロマホップは苦味成分の含量はさほど高くなく主にホップ香を付与するために用いられ、ビターホップ/高 α 酸ホップはその名の通り α 酸含量が高く、苦味を効率的に付与する目的で使用されてきた。しかし近年、苦味含量が高 α 酸ホップ並に高い品種の中からビールに柑橘類やトロピカルフルーツのような特徴的な香りを付与できるホップが育成され、このような香りを有するホップを新たに「フレーバーホップ」と呼称することも提案されている。

「フレーバーホップ」を用いて醸造したビールは大変ユニークな品種特有香（ワインに準じるなら「ヴァライエタルアロマ」）を有するが、このような香りに寄与するキーとなる香氣成分については十分に解明が進んでいなかった。我々はいくつかの「フレーバーホップ」品種に着目し、品種特異的な香氣成分と、それらの「フレーバーホップ」品種特有香への寄与について研究を続け、モノテルペンアルコール類と揮発性チオール類による品種特有香の形成メカニズムを提案してきた。本研究会ではそのうちの一部を紹介する。

伝統的にアロマホップとして使われてきた欧州のホップ品種は、モノテルペンアルコール類の中でも特に Linalool を主に含んでいたが、「フレーバーホップ」品種は Linalool に加えて Geraniol をも含んでいた。Geraniol は酵母によりホップにはほとんど含まれない β -Citronellol に変換されるが、「フレーバーホップ」の特有香のうちライム様の香りは、この β -Citronellol がキー成分となっていることを明らかにした。また、揮発性チオール類はワインの香氣成分として先行して着目されていた成分だが、「フレーバーホップ」品種の先駆けで白ワイン様の香りが特徴とされる Nelson Sauvignon から、ワインや他の食品で報告例のなかった新規なチオール 3-Sulfanyl-4-methylpentan-1-ol とその酢酸エステルを見出し、それらが品種特有のグレープフルーツ様（白ワイン様）の香氣に寄与していることを解明した。揮発性チオール類は遊離型の他、システインやグルタチオンに結合した前駆体としてホップ中に存在し、発酵中に酵母の産する酵素により遊離されて香氣を発現すると考えられている。「フレーバーホップ」品種の品種特有香の発現のために酵母が関与しているというのは興味深い知見といえるだろう。

黒い麴菌のご紹介

山田 修

(独立行政法人 酒類総合研究所)

麴菌は麴菌でも分生子（孢子）の黒い黒麴菌（*Aspergillus luchuensis*）やそのアルビノ変異株（*A. luchuensis* mut. *kawachii*）は、泡盛や焼酎の製造に利用されている有用糸状菌＝国菌です。黄麴菌と同じように原料穀物のでんぷん質を分解する酵素の供給源ですが、大きな特徴として製麴中に大量のクエン酸を生産することが知られています。このクエン酸により泡盛や焼酎もろみは酸性に保たれ、暖かい沖縄や九州での醸造に適しているとされています。九州でも始めは黄麴菌を利用した焼酎製造が行われていましたが、沖縄から黒麴菌が導入されると「其の製品は俗に『ハイカラ』焼酎なる名称の下に市場に歓迎せられ」と広く使われるようになりました。今回は、この黒い麴菌について紹介させていただきます。

黒麴菌は、1901年乾により *A. luchuensis* として初めて報告されました。ところが、10年後には中澤が泡盛麴から分離した糸状菌を乾の株とは別種の *Aspergillus awamori* と報告するなど、初期からその分類に混乱が見られていました。また、海外では黒麴菌は、欧州でクエン酸生産に利用されている *Aspergillus niger* の1種とされていました。そこで、当研究所保存の37株、醸造現場由来黒麴菌などについて塩基配列による系統解析を行ったところ、黒麴菌は、*A. niger* とは別のクラスタを形成し、黒麴菌は *A. niger* とは違う生物種であるが示されました。現在では、黒麴菌の学名は *A. luchuensis* がふさわしいと国際的に認められています。

2016年、黄麴菌から遅れること11年、黒麴菌ゲノム解析の論文が公開されました。これにより、黒麴菌と *A. niger* とのゲノムレベルでの相同性は89%と推定され、黒麴菌と *A. niger* とが別々の生物種であることが確認されました。また、*A. niger* が生産するとされている2種類のカビ毒、オクラトキシンAとフモニシンB2も黒麴菌ゲノム配列中には生合成クラスタが確認されず、黒麴菌はこれらのカビ毒を非生産性であることが示されています。

黒麴菌は、有性世代の見つかっていない不完全菌とされています。ところが黒麴菌ゲノムを解析したところ、黒麴菌はヘテロタリック株であることが示唆されました。そこで、黒麴菌の有性生殖の可能性について、現在解析を行っているところです。

参考文献

- 1) Hong, S. et al., PLOS ONE, **8**, e63769 (2013)
- 2) Yamada, O. et al., DNA Research, **23**, p507–515 (2016)

糸状菌の薬剤応答機構を統御する転写因子の発見

萩原大祐¹、川本進¹、五味勝也²

(¹千葉大学 真菌医学研究センター、²東北大学 農学部)

効率的な農業生産や公衆衛生のために、糸状菌の生育を制御する抗菌剤は広く活用されている。真菌感染症分野においても抗菌薬は必須であるが、近年は薬剤耐性に関する問題が顕在化してきた。特にアゾール系抗真菌薬への抵抗性については、世界的に広がりを見せており、その対策は喫緊の課題となっている。このような背景から、我々の研究グループでは糸状菌 *Aspergillus* 属を対象として、アゾール薬応答機構に関わる転写因子の発見を試みた。

酵母では、ABC トランスポーター Pdr15, Pdr5 (*Saccharomyces cerevisiae*)、Cdr4, Cdr1 (*Candida albicans*) などが、薬剤を排出することによりアゾール薬抵抗に寄与することが知られている。さらに、これらのトランスポーター遺伝子の発現を制御する転写因子 (Pdr1, Pdr3) についても解析が進められている。糸状菌には、これらの ABC トランスポーターのオーソログとして Cdr1B がすでに報告されていたが、関与する転写因子の報告は無い。Pdr1, Pdr3 オーソログは見つからないため、部分的に相同性を示す転写因子を対象として、麴菌 *Aspergillus oryzae* において探索した。その結果、高発現株でアゾール耐性を示し、遺伝子破壊によりアゾール超感受性を示す *atrR* 遺伝子を見出した。AtrR は Zn₂-Cys₆ 型の真菌特異的な転写因子であり、植物病原菌を含む広範な糸状菌が保持している。我々は、アゾール薬の耐性問題が課題となっている病原菌 *Aspergillus fumigatus* において、この AtrR の機能解析を詳細に進めた。

ChIP 解析により、AtrR は ABC トランスポーター Cdr1B の遺伝子発現を直接制御することを明らかとした。また、アゾール薬の作用機序は、エルゴステロール合成経路を構成する lanostero- α -14-demethylase Cyp51/Erg11 の阻害であるが、AtrR は Cyp51A の遺伝子発現も直接制御していることを示した。したがって、薬剤排出と薬剤作用に関与する両因子を制御することで、AtrR はアゾール薬応答機構において中心的な役割を果たしている。本講演では、薬剤耐性菌を対象にした AtrR の解析データも示しながら、糸状菌の薬剤応答メカニズム解明へのインパクトを議論する。

病原真菌 *Candida* のバイオフィルム形成

梶原 将

(東京工業大学 生命理工学院)

Candida 種の病原真菌は、感染する宿主細胞のみならず、口腔内の歯部や埋込型医療機器などの表面にバイオフィルムを形成する。*Candida* のバイオフィルムは、通常の酵母様細胞や菌糸状細胞に比べて高い抗真菌薬耐性や接着性を示し、一度形成された箇所からの除去は大変困難で難治性感染症に至るため医療現場で深刻な問題となっている。バイオフィルム形成は先ず *Candida* の酵母様細胞が対象物表面に接着することから始まり、その表面で増殖して厚い層を形成する。菌種によっては形態を菌糸状細胞に変化させる現象が生じる。そして細胞外マトリックスを分泌して強固な菌層（バイオフィルム）を形成する。代表的な病原真菌の *Candida* 種としては、*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* があり、多くの研究者が最も感染例が多い *C. albicans* を中心にバイオフィルムの形成メカニズムについて研究を進めている。そして、これまで接着因子 *ALSI*, 3, 5, *HWPI*, 転写因子 *EFG1*, *CPH2*, *BCR1*, 細胞外マトリックス合成に関わる *FKSI* などの多数の遺伝子が見出されているが、バイオフィルム形成は複雑な生命現象であるため、メカニズムの全容を解明するまでには至っていない。また、我が国での検出頻度が高い *C. glabrata* に関しては接着因子 *EPAI*, 6, *AWPI*-7 や細胞外マトリックス合成に関わる *FKSI* などが見出されているだけで、バイオフィルム形成のメカニズムは未だよく分かっていない。よって我々のグループでは *C. albicans* や *C. glabrata* に注目し、歯部や人工物に対するバイオフィルム形成メカニズムを詳細に解明すべく研究を行っている。これまでの研究において、*C. albicans* の歯部（ハイドロキシアパタイト）への接着ではヒト唾液タンパク質の媒介が必要であり、その唾液タンパク質と結合する真菌側タンパク質として *Bgl2p* と *Ecm33p* を見出した。そして *C. albicans* の *Bgl2* や *Ecm33* の破壊株を作出して唾液を介した歯部への接着を調べた結果、野生株と比べ接着性が低下することを確認した。さらに、これらの遺伝子破壊株を使い、バイオフィルムを形成させたところ、*Bgl2* 破壊株ではバイオフィルム形成過程でのみ酵母様細胞から菌糸状細胞への形態変化が遅れることを見出し、この遅延は転写因子 *CPH2* の発現が減少することが原因の1つと推定された。他方 *C. glabrata* については、分泌シグナルあるいは膜貫通ドメインを有する機能不明な遺伝子ホモログの破壊株 102 株を用い、それらのバイオフィルム形成能を調べた。その結果、5つの遺伝子破壊株で明確なバイオフィルム形成の減少が見られた。2つ遺伝子は細胞内の膜融合に関わる *SNARE* タンパク質群をコードする遺伝子であり、他の1つは *MFS* トランスポーター遺伝子であった。*SNARE* 遺伝子破壊株では *EPAI*, 6 の発現に変化は見られなかったが、*EPAI*10, 22 の発現が顕著に減少していることが分かり、このことがバイオフィルム形成に関わっているのではないかと推測された。