

# 麹菌ゲノム解析の現状とその利用

酒類総合研究所 微生物研究室 秋田 修

## 1. はじめに

麹菌 (*Aspergillus oryzae*) は清酒、味噌、醤油等の伝統的醸造産業において酵素の供給源として用いられてきたことから、麹菌の酵素に関する生化学的研究が盛んであった。一方、遺伝学的研究は麹菌が有性生活環を持たない、分生子が多核である等の理由から古典遺伝学による解析が困難なため酵母等に比べると進んでいなかった。しかし麹菌の形質転換系が開発されて以降、ここ 10 年間で麹菌の遺伝子レベルでの研究が飛躍的に進んだ。さらに、麹菌のタンパク質の高い分泌生産能力と安全性が着目され、食品・医療産業に関連する物質生産の宿主としての利用も進められている。特にこの分野では欧米での研究開発が活発であり、日本の醸造産業を発祥とする麹菌を利用した産業は今や国際競争の時代を迎えている。

## 2. ゲノム解析に関する世界の流れと糸状菌ゲノム解析の状況

1990 年代になると、それまでの個別の遺伝子を対象にした研究から、全遺伝情報 (ゲノム) を解明して生命現象を理解しようとする研究方法が提唱された。既に約 70 種の生物種についてゲノムの塩基配列が明らかとなり、現在も 200 種近くの生物種について解読が進められている。ヒトゲノムの解析もほぼ完了しようとしている。

従来の遺伝子研究では機能の判った酵素などから研究が開始され、最終的に遺伝子にたどり着く方向での研究であったのに対して、ゲノムによる研究は、はじめに全ての遺伝子を明らかにして、全遺伝情報を用いてその生物種の特性を明らかにしていくという、これまでとは逆方向の研究方法である。

酵母では 1996 年に全ゲノム解析が終了しているが、同じ真菌類の麹菌を含む糸状菌に関しては、遺伝情報が少ないことやゲノムサイズが酵母より大きい等のことからゲノム解析は遅れていた。しかし、麹菌の近縁種には、発酵生産、異種タンパク質の分泌生産などのバイオテクノロジー、日和見感染などの医療・医薬分野、農作物汚染などの農業分野など産業的・経済的に多岐の分野に関わる重要な種が存在する。そのため、1998 年頃から欧米では企業による糸状菌のゲノム解析も行われるようになってきた。

## 3. 麹菌の EST (Expressed Sequence Tag) 解析

国内では、1997 年 7 月に大学・国立研究所・企業の糸状菌研究に関わるメンバーを中心に「糸状菌ゲノム解析専門委員会」が設置された。我が国では醸造産業に広く使われてきた *Aspergillus oryzae* (麹菌) の解析が重要であるとの考えから、委員会メンバーが所属する各公的研究機関が協力して *A. oryzae* の EST 解析を開始した。ゲノム全ての塩基配列を解読しようとするゲノム解析に対して、EST 解析はゲノム中で機能している遺伝子 (タンパク質を定めている部分) だけの部分塩基配列をできるだけ数多く収集することを目的としている。

麹菌の EST 解析では、*A. oryzae* RIB40 株を用い、固体培養、富栄養液体培養、炭素源飢餓液体培養、発芽分生子などの各条件からの cDNA ライブラリーを構築し、5' 末端から塩基配列を解読した。

約 1 年半の集中的な解析により総 EST 数は約 21,600 余りとなった。その半数は当所による解析である。重複を考慮すると約 5,000 程度の遺伝子の情報が収集されたと見積もられ、約 8,000~9,000 とされる麹菌全遺伝子の 55% 程度の部分塩基配列をカバーするに至った。

これらの EST の塩基配列は、タンパク質のコード領域を解析していることから、研究目的の遺伝子や麹菌特有の遺伝子を探索するのに非常に有効に利用できる。麹菌の EST の塩基配列の約 30%は既知の塩基配列には見あたらない新規と思われる遺伝子であった。

#### 4. 麹菌のゲノム解析の現状

EST 解析データの利用価値は高いものの、EST は発現している遺伝子だけが対象になり、しかもランダムに拾い上げて解析するため、全ての遺伝子をカバーできないという限界がある。従って麹菌の研究をさらに発展させるためには最終的には麹菌のゲノム解析が必要である。

これまで細菌のゲノム解析を進めてきた(独)製品評価技術基盤機構(NITE)が、平成13年度に有用産業微生物のゲノム解析に関する共同研究を公募したのを受けて、麹菌 EST 解析研究グループがこれに応募して採択になったことから麹菌のゲノム解析が開始された。平成13年12月には、全ゲノムの95%をカバーする領域の塩基配列が解読されるに至った。

ゲノム配列から遺伝子を同定する作業には EST 情報が有効に利用され、約 10,000 の遺伝子が見いだされた。醸造産業、食品産業に有用な加水分解系の多数の酵素遺伝子の他、約 1,700 個の膜タンパク質関連遺伝子、約 380 個の転写関連遺伝子、約 70 個の分泌関連遺伝子、約 160 個の翻訳関連遺伝子などが見いだされ、現在さらに詳細な解析が進行中である。

#### 5. 麹菌ゲノム情報からの研究の展開

麹菌のゲノム情報の活用は、他の生物種での場合と同様に多岐にわたると考えられる。

ゲノムの全塩基配列を決定した後のゲノム解析研究は一般に以下のように進められる。

全 DNA(塩基配列)の解析 発現(mRNA)解析 全タンパク質解析 全代謝産物解析  
(Genome) (Transcriptome) (Proteome) (Metabolome)

EST やゲノム情報を基盤として、麹菌の各遺伝子の転写発現解析、プロテオーム解析、遺伝子破壊などの、様々な系統的解析を展開していくことが重要である。これにより、従来は突然変異などにより多くの労力と時間をかけて行われてきた育種や、酵素生産の最適化の検討などを効率的に進めることが可能となると期待される。遺伝子の転写発現解析では、EST のクローンをを用いて作成した DNA チップが有効に活用できる。DNA チップを利用すれば種々の条件下における麹菌の遺伝子発現を網羅的に解析することができ、それぞれの条件への麹菌の適応機構などを詳細かつ総合的に解析することが可能になる。これらの結果は、より効率的な製麹方法の開発や、優れた機能を有する麹菌株の育種にも重要な情報を提供しうると考えられる。当所では麹菌遺伝子の転写発現解析、プロテオーム解析の研究に着手している。

さらに、麹菌は安全性が認められていることから、遺伝子資源としての価値が高く、その遺伝子産物であるタンパク質を直接産業利用することが容易であり、醸造産業以外の産業への寄与も期待される。

また、世界では麹菌以外の糸状菌のゲノム解析が進行しているが、中でも *Aspergillus* 属は生活や産業に密着した多くの種が存在し、種間での塩基配列の類似性も高いことから、これら近縁種間でのゲノムレベルでの比較によって、病原性や安全性に関する重要な情報が引き出されることも期待される。糸状菌は形態変化(分化)をすることから、麹菌のゲノム解析結果と麹菌と近縁である酵母などの遺伝子セットと比較することによって、形態変化に關与する糸状菌に特有の遺伝子を探索することが可能であり、生物の進化に関する基礎的な知見も得られることが期待される。以上のように、麹菌ゲノム情報は、基礎研究から産業利用まで幅広く活用できる重要な研究基盤情報を提供するものである。

# 麹菌 (*A.oryzae*) のゲノム解読及びその利用

