

麹菌 (*Aspergillus oryzae*) における固相培養時発現遺伝子群のモニタリングとその利用

前田 浩

(東北大学大学院農学研究科 応用生命科学専攻)

麹菌 (*Aspergillus oryzae*) は発酵産業において広く用いられている産業微生物のひとつである。この麹菌は約 8,000 遺伝子を有していると考えられるが、産業利用されているのは未だ 1% 程度であり、多数の有用酵素遺伝子群が潜在的に未利用のままである。加えて、日本の発酵化学産業、特に麹菌を用いた酵素生産においては、小麦フスマ等を用いた固相培養がその高度生産に有効であるとされてきた経緯がある。しかしながら、その有用酵素遺伝子群の発現機構については未だ経験に基づいた最適化が図られているに過ぎず、さらに麹菌の基本代謝経路 (解糖系、TCA サイクル等) を構成する酵素遺伝子の発現様式についても未だ不明な点が多いのも事実である。今後、麹菌の高度利用を目指すには、個別遺伝子利用から、ゲノム遺伝子全体の利用への移行が必須となる。このような背景から、麹菌の全ゲノム配列の解読、ならびに ESTs (expressed sequence tags) 解析が産官学コンソーシアムにより推し進められてきた。その過程で我々は麹菌 EST データベースを基に選択された 2070 種の cDNA が搭載された麹菌 cDNA マイクロアレイを作製してきた。本研究ではこの麹菌 cDNA マイクロアレイを用い、固相培養時の遺伝子発現を網羅的にモニタリングすることで、産業上有用な酵素遺伝子群の発現の最適化を図ることを目的としている。

まず、麹菌の基本代謝経路を構成する酵素遺伝子群の発現様式を、グルコース存在下 (AC condition) と非存在下 (AN condition) で液体培養し比較解析した。その結果、*Saccharomyces cerevisiae* や *Trichoderma reesei* などでは TCA サイクルが抑制されるようなグルコース存在下で、麹菌は解糖系とそれに続く TCA サイクルが同時に発動することを明らかにした。

次いで、麹菌の固相培養時の遺伝子発現をモニタリングした。本研究では発酵基質として、小麦フスマ、米ヌカ、大豆オカラの 3 種を選択した。これら 3 種は日本の食品産業において恒常的に産出される産業廃棄物でもあるが、固相培養基材として今後利用価値が高まるであろうバイオマスとしての一面をも有する。本研究において、この 3 種におけるバイオマス分解関連酵素遺伝子およびタンパク質分解酵素遺伝子などの産業上有用な酵素遺伝子群の発現をモニタリングしたところ、液体培養に比して、総じて発現量の増加が確認された。特に小麦フスマを用いた固相培養時に最も高い発現量を示した。さらに液体培養時に比べ小麦フスマ固相培養時に麹菌の基本代謝経路は最も低く抑えられていた。このことから、セルロースやヘミセルロースを主体とする多糖類を多く含むバイオマスを用いた固相培養では、グルコースの菌体内への取り込みが制御され、基本代謝経路が抑制され、その結果カタボライト抑制が解除されることにより有用酵素

遺伝子群の発現量が向上したと示唆された。これは網羅的な遺伝子発現解析を行ったことで、産業上有効とされてきた固相培養における酵素生産を系統的に明らかにしたものである。