

麹菌ゲノム解析と食品利用への期待

麹菌（こうじきん）は、味噌をはじめとするわが国の発酵食品の醸造にとって不可欠の微生物である。麹菌の生命の設計図であるゲノム情報解読の完了が2005年の年末12月22日に発表された。食品に関連する微生物では、これまでに枯草菌¹⁾、出芽酵母²⁾、乳酸菌の仲間などの微生物ゲノム情報の解読が完了しているが、わが国の麹菌もその仲間入りを果たしたということになった。麹菌ゲノム解析は、わが国の産学官の研究者が麹菌ゲノム解析コンソーシアムの中で一致協力してすすめた研究プロジェクトで、研究、生産の現場に近い所から立ち上げられた研究といえる。

1. 麹菌（こうじきん）とは

麹菌は、コウジカビともよばれ、菌類に属する糸状菌である。菌類は真核細胞の微生物であり、単細胞で存在する酵母、糸状細胞で大きな子実体をつくるキノコとともに菌糸状態で生育するカビが含まれている。コウジカビは菌類に属する微生物で、生活環に有性世代をもたない不完全菌類の一つとして分類されており、学名では *Aspergillus* 属に含まれるカビであり、醤油、味噌、清酒などの伝統的発酵食品、醸造産業に使われている有用菌が多く含まれている。コウジカビは、明治時代初期に政府の御雇外国人教師として日本に滞在した Herman Ahlburg が、わが国の米麹から初めて分離し、米によく繁殖することから *Eurotium oryzae* と命名した。その後、このカビは有性生殖をしないことがわかり、不完全菌として *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn と改名されたものである。

酒造などで使われる米麹は、ほぼ自然開放系の状態で造られるため、大気中から他の微生物が混入することがある。現在では、製造管理が行き届いているためほとんど起こることはないが、大気中には、他のコウジカビ、クモノスカビ、ケカビなどのその他のカビ類が浮遊しており、麹のなかに落下して繁殖することがある。これらの混入菌は麹の中で主体となる有用菌ではないので、コウジカビとは明らかに区別される。このため、麹中に混在する一切のカビ類と区別して、コウジカビは麹菌（こうじきん）と呼ばれている³⁾。

2. 発酵食品と麹菌

わが国の伝統的発酵食品である味噌、醤油、酒などの醸造には、必ず麹菌が用いられている。醤油は日本農林規格において、清酒は酒税法において、必ず麹をもちいることがうたわれている。また、味噌は、麹の原料によって、米味噌、麦味噌、豆味噌の区分があり、いずれも麹菌を米、麦、大豆に生育させて麹を造り、これを酵素源として発酵熟成を経て製品を製造している。さらに麹菌は、米麹と

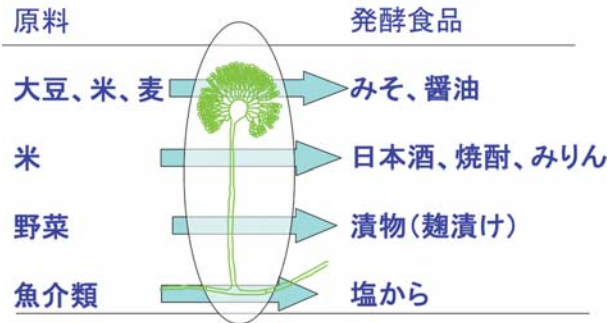


図1 麹菌(こうじきん)と日本の発酵食品

して、麹漬物、魚介類を原料とした塩からの原料としても広く利用されていることから、麹菌はわが国の食事の根底を支えているといえる(図1)。

味噌の醸造工程では、原料大豆、米、麦などの成分、タンパク質、糖質、脂質がそれぞれ麹菌の分解酵素によって分解され、アミノ酸、ブドウ糖、脂肪酸、グリセリンが生成する。麹菌は、米麹などによって固体培養されると、プロテアーゼ、ペプチダーゼ、アミラーゼ、リパーゼ等の酵素を大量に分泌生産する。プロテアーゼ、ペプチダーゼは大豆タンパク質をペプチド、アミノ酸に加水分解し、呈味アミノ酸を生成する。また、アミラーゼは、デンプンを加水分解してブドウ糖を生成する。リパーゼは大豆の脂質を脂肪酸とグリセリンに分解する。味噌の発酵熟成中には、麹菌の酵素による加水分解反応と同時に耐塩性酵母、乳酸菌が生育し、アルコール、香気成分や乳酸を生成する。酵母、乳酸菌は味噌の香りや味の成分を生産する有用な発酵微生物であるが、これらの働きは麹菌の酵素によって、ブドウ糖、アミノ酸、脂肪酸などが生成しなければ十分に活かされない。すなわち、麹菌は原料成分を消化分解しているとともに酵母、乳酸菌の活躍の場を整備する役割を担っているのである。酒造においても、清酒酵母のアルコール発酵は、麹菌のアミラーゼによって米デンプンからブドウ糖が生成し、これを原料として酵母がアルコールを生産する。酵母は米デンプンから直接アルコール発酵する機能を持っていないので、麹菌のアミラーゼがなければ日本酒は醸造できないことになる。このように、発酵食品の製造では、麹菌の役割がいかに大きなものであるかがわかる。

麹菌の粗酵素粉末は「酵素の宝庫」と言われるように、麹菌は多種類の酵素を大量に生産する能力を持つ。食品加工用アミラーゼ、プロテアーゼ、ペクチナーゼ等の酵素、繊維工業用アミラーゼ、セルラーゼなどの数多くの種類の食品、工業用酵素剤が、麹菌によって生産されている。このように、麹菌は、発酵食品製造だけでなく工業的にも多く用いられており発酵産業全般にわたって欠く

このできない糸状菌の位置をしめている。

麹菌の近縁のカビには、*Aspergillus flavus* のようにアフラトキシン毒素を生産する危険なカビも存在する。しかし、麹菌はアフラトキシンを産生するものは見つかっていない。また、他の低毒性の物質を作る麹菌はほとんど利用されていない。麹菌は、わが国の発酵食品の製造に長年月にわたって使われ続けてきた。酒造方法は、奈良時代の朝廷において法令として存在しており、味噌の記録は平安時代の延喜式に記載があるほどで、わが国の麹菌は一千年もの歴史をもつ発酵食品の微生物である。また、わが国では、種麹業界が種麹を保存管理し、商業的に営々と維持してきた伝統がある。歴史的に食品として安全に食べられてきたことから、アメリカ合衆国 FDA では麹菌を GRAS (Generally Recognized As Safe) のリストに掲載し、安全性を認定している。

3. ゲノム情報とはなにか

ゲノムとは、一つの生物の全遺伝情報の一式を指す言葉である。すなわち、麹菌ゲノムは、麹菌が持っている全ての遺伝子のワンセットと言うことになり、麹菌の生命の設計図ともいえる。麹菌が麹菌であるためには、細胞、菌体組織を構成し、細胞機能をつかさどる菌体構成タンパク質、酵素タンパク質、代謝関連タンパク質、情報伝達タンパク質など無数のタンパク質が調和して働いている。これらタンパク質の情報は、染色体 DNA を録音テープに見立てると、その上に ACGT の塩基配列によって遺伝情報として記録されている。しかし、この遺伝情報は所々でイントロン（介在配列）と呼ばれる配列で分断されている。この遺伝情報は、イントロン部分をスキップしてメッセンジャー RNA (mRNA) に一旦転写されたのち、タンパク質合成装置であるリボソームによって翻訳され、特有のアミノ酸配列をもつタンパク質が生成されると言う手順で機能を発現する。染色体 DNA に記録されているゲノム情報はタンパク質の設計図と言えるが、そのままでは機能を発揮することはなく、転写、翻訳過程の後に酵素タンパク質などの機能分子が合成されることによって、はじめて生体機能を発現する(図2)。ゲノム情報によれば、酵母は約6千4百、麹菌は約1万2千の遺伝子をもつことがわかってきた。人間は約2万から3万個の遺伝子を持つことが推定されている。人間のゲノムは、微生物に比べて人体の複雑な構成を担うには意外に少ない数の遺伝子で成り立っていることがむしろ不思議に思われるほどである。実際には、これらの遺伝子をもとにして合成されたタンパク質は単独で一つの働きをしているのではなく、相互作用し、協調することによってさらに多様な反応を行い、生体機能全体が成り立っている。さらに最近では、染色体 DNA の非翻訳領域にコードされている短鎖長 RNA が、転写産物の調節に機能していることがわかり、転写制御因子の結合領域が存在することも明らかになり、染色体 DNA はタンパク質の設計図としてだけではなく、発現調節の機能をも担っていることがわかって

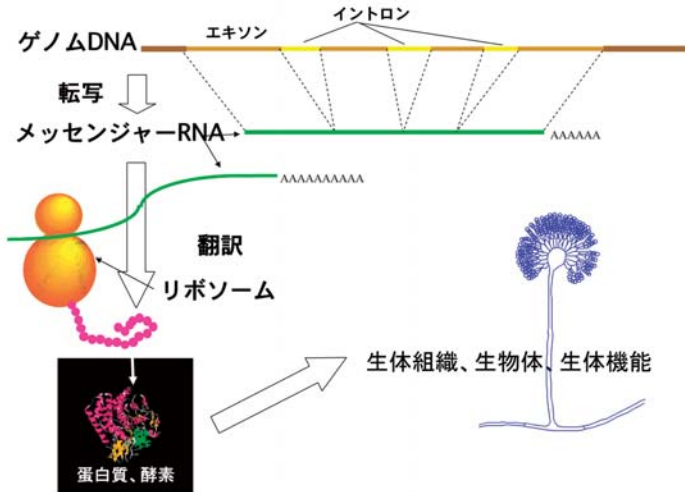


図2 ゲノム情報を解読すれば、麹菌の秘密がすべてわかる!?

きた。

麹菌細胞内の生命反応を芝居にたとえるならば、ゲノム情報は、細胞を構成するタンパク質の役者のプロフィールと台詞を記述した台本とも言える。芝居は、役者が各々の役どころで台詞をしゃべり、ストーリーが進行していく。その日の観客の受けによっても、時々アドリブが入ったりすることがあるかもしれない。タンパク質役者が掛け合いをしながら生命活動が進行し、時々環境ストレスに細胞が応答していく様は、まさに生体の機能を芝居として見ているのと同じことに思われる。

このように、ゲノム情報とはタンパク質の設計図であるとともに、生命活動芝居の台本の役割をも果たしていると考えられる。

4. 麹菌の EST 解析

麹菌ゲノム解析を念頭に置き、海外企業等による遺伝子特許への対抗、ゲノム解析研究が緊急を要することなどから、EST 配列解析を先行して実施することにした。EST 配列解析とは、麹菌が実際に発現している遺伝子を cDNA (相補的 DNA) として捉え、その末端塩基配列 (EST: expressed sequence tags) を決定するものである (図2で mRNA を鋳型として cDNA を作成し、その配列を決定する)。EST 解析の利点は、ゲノム上にコードされている遺伝子の配列情報を cDNA として取得できるため、蛋白質に翻訳される意味のある情報のみを効率的に得ることができる点である。この EST 情報を用いれば、蛋白質の一次構造と各遺伝子の発現頻度の情報を得ることができる。また、ゲノム上への遺伝子

のマッピング、新規有用遺伝子のスクリーニングにも利用することができる。さらに、EST クローンから得られる cDNA を用いて、cDNA マイクロアレイの作成への利用が可能となる。このように、EST 解析研究は、極めて有用な情報源であるとともに、さらに進んだ技術への利用が期待されるものである。ちなみに、ヒトゲノム研究ではこれまでに、ヒトゲノム解析に先駆けて、EST 解析の研究がおこなわれている⁴⁾。また、わが国では、種々のゲノム解析研究に先行してヒトボディマップの作成⁵⁾、イネ EST 解析⁶⁾などの発現遺伝子解析研究が世界に先駆けて行われており、わが国が得意とする研究分野である。そこで、1998年に国税庁醸造研究所（現、独立行政法人酒類総合研究所）、工業技術院生命工学工業技術研究所（現、独立行政法人産業技術総合研究所）、農林水産省食品総合研究所（現、独立行政法人農研機構食品総合研究所）、東京大学、東京農工大学、東北大学、名古屋大学、愛知県食工技センターが分担し、企業等からの協力を得て、1998-1999年の期間で麹菌 EST 配列解析計画が行われた。

供試菌株は、*Aspergillus oryzae* RIB40株を共通して用いた。それぞれの研究機関にて、ふすま麹、富栄養液体、貧栄養液体、分生子発芽、高温富栄養液体、アルカリ性培地等の異なる生育条件にて培養を行い、得られた菌体から定法に従い mRNA 抽出、cDNA 調製をおこない、EST ライブラリーを作製し、得られた EST クローンの塩基配列をランダムに決定した。富栄養液体培養：2,693、高温培養：2,072、貧栄養液体培養：1,953、マルトース炭素源培養：932、アルカリ液体培養：751、固体培養：5,358、発芽分生子：1,049の EST 配列が解析され、約1年6ヶ月の期間で得られた EST クローン総数は約17,000個に達した。これらの EST 配列データに対して、同一配列を持つクローンを結合しグループ化するクラスタリング操作を行った。これには NEDO 事業により産総研と民間企業で製作された遺伝子解析ソフトウェアが用いられた。この結果、約17,000個の EST クローンは約6,000個のクラスター（共通配列をコンティグという）にまとめられた。得られたコンティグの塩基配列を用いて、公開データベースに対して相同性検索を行った結果、約49%が既知遺伝子とは相同性を持たないことがわかった。これらの遺伝子は新規のものであり、麹菌特異的な遺伝子である可能性が高く、産業上有用なものが含まれていることが期待される。

得られた EST 塩基配列データは、DDBJ/GenBank/EMBL ならびにインターネット上にて公開されている（<http://www.aist.go.jp/RIODB/ffdb/welcomej.html>）。本研究にて明らかにされた麹菌発現遺伝子配列情報は、これに続く麹菌ゲノム情報解析において有用な基礎データとなるのみならず、遺伝子機能解析、DNA マイクロアレイによる遺伝子発現ネットワーク解析など、ゲノム科学解析において有用な貢献が期待されている⁷⁾。例えば、本研究から得られた結果をもとにして、固体培養時特異的に発現する転写制御遺伝子 *atfB*⁸⁾、高温培養時に特異的に誘導される遺伝子 *Aohsp30*^{9),10)}等の単離がおこなわれており、新規有用遺

伝子の発見がなされている。

5. 麹菌のゲノム解読の経緯

麹菌の EST 解析に参加した研究機関が中心となり麹菌ゲノム解析コンソーシアム（代表：財団法人日本醸造協会）が設立され、（独）製品評価技術基盤機構（NITE）との共同研究によって、麹菌の全ゲノム配列解析プロジェクトが開始されたのは、2001年のことであった。供試菌株は *A. oryzae* RIB40として、ホールゲノムショットガン(WGS)法によって、ゲノム配列解析が行われた(図3)。1～2 kbの断片化された麹菌ゲノム DNA クローンの塩基配列をランダムに解読する方法である。NITEのDNAシーケンスセンターにおいてシーケンス解読作業が行われた。得られたデータはコンピューター上でアッセンブル(結合)され、次第にスーパーコンティグとして全貌を現していった。しかし、ゲノム上にはATリッチ繰り返し領域、セントロメア領域*が存在し、WGS法では完全に連結したデータを取得することができなかった。最終的にそれぞれが数百万塩基の長さを持つ約20個のスーパーコンティグが得られた。そこで、染色体とスーパーコンティグをつきあわせるために、物理マッピングを行う必要が生じた。麹菌ゲノム解析コンソーシアムの酒類総研、食総研、産総研が、染色体をパルスフィールド電気泳動によって分離し、スーパーコンティグの末端配列をプローブとしたサザンマッピングを行った。また、蛍光標識を用いたオプチカルマッピング技術を用いて染色体上への物理マッピングを完成させた。その結果を見ると、コンピューター上で結合されたコンティグ配列は完全に正確な染色体配列であり、ほとんど間違いがないくらいの精度であった。本研究では、良好なBACライブラリーが得られなかったこともあって、当初から完全なWGS法をもちいてゲノム解析が行われた。約37Mbという巨大なゲノムをWGS法でほぼ完全に解読したことは、ゲノム解析コンソーシアムの解析能力が示されたものと考えられる。

麹菌全ゲノム配列解析

Aspergillus oryzae RIB40株
ホールゲノムショットガン法

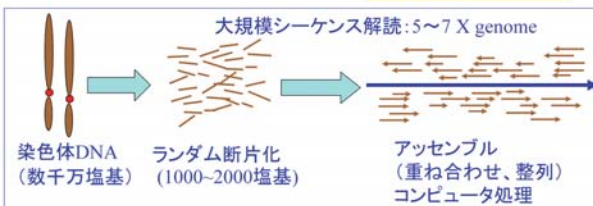
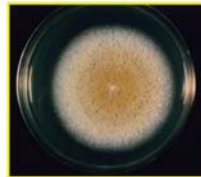


図3 麹菌ゲノム配列解析プロジェクト

麹菌全ゲノム配列解析

麹菌ゲノム解析コンソーシアム



製品評価技術基盤機構

Aspergillus oryzae RIB40

ホールゲノムショットガン法

シーケンス長 : 約10×ゲノム

ゲノムサイズ : 約37Mb

染色体数 : 8本

推定遺伝子数: 約12000

M.Machida et al., *Nature*, 22/29Dec. (2005)

(http://www.bio.nite.go.jp/dogan/MicroTop?GENOME_ID=ao)



図4 麹菌ゲノム解析の成果

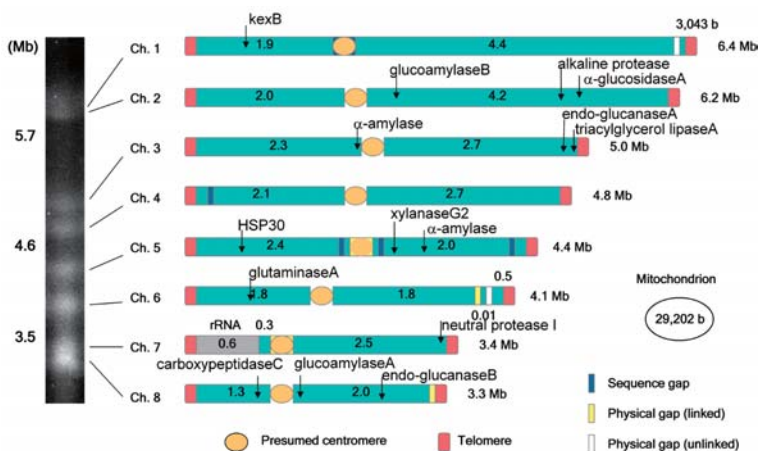


図5 麹菌染色体の概要と主要な酵素遺伝子の位置

さらに、DNA シーケンスデータ上に存在する遺伝子領域を産総研にて開発された GeneDecoder プログラムによって推定し、アノテーション付加作業を行っていた。この結果、全ゲノム配列は約37Mb (37,000,000塩基対)、推定遺伝子数12,000の値が得られた。推定遺伝子の機能アノテーション**は、コンソーシアムの研究者がすべて手動にて確認修正作業を行い、精度を高めた。この結果、染色体8本、ゲノムサイズ約37Mbの麹菌全ゲノム配列が明らかになった(図4、

図5)。

6. 麹菌ゲノムの特徴¹⁾

麹菌 *Aspergillus oryzae* (http://www.bio.nite.go.jp/dogan/MicroTop?GENOME_ID=ao) のゲノム解析と時を同じくして、海外のアカデミックグループが *A. nidulans* (http://www.broad.mit.edu/annotation/genome/aspergillus_nidulans/Home.html), *A. fumigatus* (<http://www.tigr.org/tdb/e2k1/afu1/>) のゲノム解析を行った。同じ *Aspergillus* 属の糸状菌のゲノム解析をほぼ同時に行い、比較することができたのは幸運であったといえるだろう。ゲノムサイズを比較すると、*A. oryzae* : 37Mb, *A. nidulans* : 30Mb, *A. fumigatus* : 28Mb であった。また、推定された遺伝子数は、それぞれ12,000, 9,300, 9,000であり、ほぼゲノムサイズに比例していた。*A. nidulans* は、歴史的に糸状菌遺伝学の研究対象であって実験室の中で保存されてきたものである。*A. fumigatus* は、ヒトに日和見感染する病原性カビであり、人体という恒常的な環境で生育するものである。これにたいして、*A. oryzae* は、醸造、発酵に実用的に用いられ、麹として自然開放系にて穀物などに培養され、*A. fumigatus*, *A. nidulans* に比べて遙かに過酷な条件での生育を要求される。このため、生育環境に対応するための遺伝子を保有し、ゲノムサイズも大型化の方向に進化したものと考えられている(表1)。

また、これまでに、クローニングされ構造解析が行われた麹菌の代表的酵素遺伝子を染色体上にマッピングしてみると図5のようになる。酵素遺伝子の面から比較を行ってみると、醸造発酵において重要なプロテアーゼの推定遺伝子の数を比較すると、プロテアーゼ遺伝子総数は、それぞれ135, 90, 99であり、やはり麹菌のほうが、遺伝子数が50%ほど多い(表2)。これも、実用的な醸造発酵条件では麹菌に求められる形質の一つであり、実際の生育環境において、野生に近いプロテアーゼ数を持つことが必要であったためと考えられている。一方では *A.*

表1 麹菌と類縁菌のゲノムの比較

Table 1 Comparison of genome characteristics

Genome characteristic	<i>A. nidulans</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. oryzae</i>
<i>General</i>			
Assembly size (bp)	30,068,514	27,980,910	37,047,050
G+C (%)	50	49	48
Protein coding genes	9,541	9,926	14,063
Protein coding genes (> 100 amino acids)	9,396	9,009	12,074
<i>Predicted protein coding sequences (> 100 amino acids)</i>			
Coding (%)	50	49	45
Gene density (1 gene every n bp)	3,151	2,938	2,613
Median gene length (mean)	1,547(1,868)	1,389(1,644)	1,152(1,414)
Average number of exons per gene	3.6	2.8	2.9

表2 麹菌と類縁菌の蛋白質分解酵素遺伝子数の比較

Table 2 Redundancy of secretory proteolytic enzyme genes

		<i>A. oryzae</i>	<i>A. nidulans</i>	<i>A. fumigatus</i>
Exopeptidase				
Aminopeptidase	EC 3.4.11. .	19	15	14
Dipeptidase	EC 3.4.13. .	3	1	2
Dipeptidyl or tripeptidyl peptidase	EC 3.4.14. .	9	6	6
Serine-type carboxypeptidase	EC 3.4.16. .	12	5	8
Metallo-carboxypeptidase	EC 3.4.17. .	12	7	7
unknown peptidase		14	10	11
Total		69	44	48
Endopeptidase				
Oryzin	EC 3.4.21.63	2	2	2
Aorsin	EC 3.4.21. .	2	1	1
Kexin	EC 3.4.21.61	1	1	1
ATP-dependent proteinase	EC 3.4.21.51	6	6	6
Cysteine proteinase	EC 3.4.22. .	4	3	4
Ubiquitin-specific proteinase	EC 3.4.22. .	7	7	7
PalB	EC 3.4.22. .	1	1	1
Aspartic proteinase	EC 3.4.23.18	11	7	7
Pepstatin insensitive proteinase	EC 3.4.23.19	3	2	2
Saccharolysin	EC 3.4.24.37	3	0	1
Metalloprotease	EC 4.2.24. .	12	5	8
Insulinase	EC 3.4.24. .	4	4	4
unknown	EC 3.4.99. .	10	7	7
Total		66	46	51
Exopeptidases + Endopeptidases		135	90	99

nidulans, *A. fumigatus* は生育環境を限定することによって、不要な遺伝子を放棄する方向に進化したものと考えられる。

このほか、ペクチナーゼ遺伝子、P450遺伝子など分解酵素系遺伝子は、やはり麹菌が多く保有する傾向があり、麹菌は野生型に近いゲノム構造を持ち続けながら、今日まで生き続けたものと考えられる。

7. 麹菌ゲノム解析に何が期待されるか。

麹菌は食品、発酵工業など産業上重要な微生物でありながら、有性世代が未発見である等の理由から、意外にも遺伝学的解析等の研究が進んでいるとは言えず、むしろ大幅に遅れていると言って良いであろう。農作物や家畜は交配によって、数々の品種が育成されてきた。酵母も交配によって品種改良ができ、交雑法によって各種の遺伝子の存在やゲノム上の遺伝子位置が解明されてきた。しかしながら、麹菌の有性世代は未発見であり、交雑することができないため遺伝的解析がほとんど行われていなかった。1970年代に開発された遺伝子工学技術によって、麹菌の酵素などの遺伝子が次々にクローニングされてきたが、酵素の宝庫とも言われている麹菌の酵素遺伝子を全体的に解明することは多大の時間と労力を要す

る事業である。

近年、ヒトゲノムに代表されるように生物のゲノム解析研究が次々と行われ、微生物においても出芽酵母や枯草菌のゲノム解析が完了し、遺伝子解析研究が急速に進んだ。麹菌においてもゲノム解析は、新規遺伝子の発見などの研究基盤として極めて重要な研究課題と考えられた。つまり、麹菌の生体構造、生体機能、酵素等の特徴は、酵素やタンパク質の機能によって決められているが、その情報を担っているのはゲノム DNA 配列に記録された遺伝子情報である。このため、ゲノム情報配列をすべて解読することによって、既知の酵素遺伝子、未知遺伝子をも含めて麹菌の遺伝的情報を入手することができる。特に実用麹菌の遺伝子情報は、産業的に価値の高い情報であるといえる。麹菌のゲノム情報に含まれている未知遺伝子の中には、これまででない優れた活性をもつ酵素が存在することが大いに期待される。もし、この酵素が画期的な活性を有するものであり、先にこの遺伝子を手中に収められれば、産業的に有利な位置を占めることができる。このような状況で、1998年に米国のベンチャー企業によって麹菌の類縁菌 *A. nidulans* のゲノム解析が完了したことが報告された。また、酵素生産菌として有名な *A. niger* のゲノムも欧州の企業が解析したと言われているが、これらのデータは現在に至るまで一般に公開されていない。

麹菌は、醸造、発酵食品製造にて重要な糸状菌であり、数多くの酵素遺伝子とそのゲノム中に保有ことがわかっている。これまで、いくつもの遺伝子が研究されてきたが酵素等のタンパク質からの研究には限度があり、酒造で注目されるアミラーゼ、醤油醸造で重要視されるプロテアーゼ、ペプチダーゼ等、酵素タンパク全体から見れば一部の酵素が詳細に研究されているにすぎず、発現量が少ない酵素タンパクはほとんど研究がなされてこなかった。しかしながら、ゲノム解析の結果から、これまで存在すら知られていなかった数多くの酵素遺伝子がわかってきた。プロテアーゼ遺伝子と推定されるものだけでも135個もの遺伝子が存在する。このうち既知のものはごく一部であり、大部分は発現量がきわめて少ないか、通常環境では発現していないであろうと考えられる。この中には、全く新しい機能を有するものや特異的反応を触媒するものの存在が期待される。ゲノム情報が明らかになり、酵素タンパクの情報も遺伝子の方向から明らかになると、微量にしか得られなかった酵素タンパクでも、遺伝子をクローニングすれば大量に入手することが可能となり、性質や構造の解明を行うことができる。すなわち、食品産業のために有用な新規酵素を入手することが可能となり、新たな食品素材や食品製造工程の開発に応用できるかもしれない。

また、麹菌ゲノム上の遺伝子情報がすべて入手できるため、それぞれの遺伝子の発現状況をマイクロアレイ技術等によって網羅的に解析すること、いわゆるトランスクリプトーム解析が可能となる。これまで、発酵状況の解析は酵素生産量やタンパク質生産量などの定量により、分析結果から推定することが主流であっ

たが、網羅的な遺伝子発現解析によって遺伝子発現のステージから見て、発酵中にどのような遺伝子あるいは遺伝子群が発現するかを調べることができる。その遺伝子群の中で特徴あるものを指標として、逆に発酵中の麹菌の状態を推定することができ、発酵の工程管理などへの応用が考えられている。このように、単独の酵素、遺伝子の解析だけでは判然としなかった菌の生育状態を遺伝子発現の網羅的な解析によって把握する新しい測定技術が考えられている。ゲノム情報解析によってえられた膨大な情報は、これまでできなかった新しい測定法、発酵法の開発の基礎として、今後の応用が期待されている。

8. おわりに

近年、数々のゲノムシーケンスプロジェクトが行われ、莫大なデータが生産され蓄積されている。麹菌の約37Mbのゲノムに含まれる遺伝子数は約12,000であったが、既存のDNAデータベースの中の機能が明らかなものとは一致するか、あるいは相同性から機能が推定されるものは、そのうち約半数でしかないことが改めて明らかになった。いずれのゲノム解析でも言えることであるが、ゲノム情報はあくまでも情報であり、配列情報と機能情報を関連づけることが、ゲノム情報を理解し産業的、学術的に応用可能にするためには必要である。麹菌ゲノム情報が明らかになった今、既にポストゲノムシーケンス研究が動き始めている。麹菌EST情報を応用したcDNAマイクロアレイ、ゲノム配列をもとにしたホールゲノムアレイを用いた発現遺伝子の解析（トランスクリプトーム解析）の研究が急速に進んでいる。また、ゲノム情報をもとにして、麹菌細胞のタンパク質を全て解析するプロテオーム解析研究も開始されている。ゲノム、遺伝子転写制御、タンパク質の各階層における研究が進むことによって、新しい遺伝子機能が明らかになり、醸造・発酵産業に役立つ新技術の開発が期待されている。

*セントロメア：真核細胞の有糸分裂により、染色体が配分されるときに必要なDNA配列をさす。出芽酵母では200bp以下の短い配列であるが、ヒトでは約170bpの配列が数百kbから数Mbにわたって繰り返し配列を形成している。

**アノテーション：遺伝子の塩基配列に対する注釈情報。ゲノムなどに見いだされた遺伝子に関する機能、他の遺伝子との関連などの情報を注釈として付加すること。

謝辞

麹菌ゲノム解析は、麹菌ゲノム解析コンソーシアムによる共同研究によって行

われたものである。麹菌 EST 解析はキッコーマン(株), ヒゲタ醤油(株), ヒガシマル醤油(株), 月桂冠(株), 大関(株), 天野エンザイム(株), 全国種麹組合, 全国味噌工業協同組合連合会からの研究助成, 委託研究によって行われたものであり, 本研究の一部は農林水産省パイオニア特別研究の一環として実施された。

(微生物利用研究領域 糸状菌ユニット 柏木 豊)

参考文献

- 1) Goffeau, A., Barrell, B.G., Bessey, H., Davis, R.W., Dujon, B., Feldmann, H., Galigert, F., Hoheisel, J.D., Jacq, C., Johnston, M., Louis, E.J., Mewes, H.W., Murakami, Y., Phillippsen, P., Tettelin, H., Oliver, S.G., Life with 6000 genes. *Science*, 274, 564-567 (1997)
- 2) Kunst, F., Ogasawara, N., Moszer, I., Albertini, A.M., Alloni, G., Azevedo, V., Bertero, M.G., Bessieres, P., Bolotin, A., Borchert, S., Borriss, R. et al., The complete genome sequence of the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature*, 390, 249-256 (1997)
- 3) 村上英也, 麹菌, 「麹学」, (日本醸造協会), pp. 57-58 (1986)
- 4) 水野克也, 大久保公策, EST データとその利用法, 蛋白質核酸酵素, 42, 2814-2821 (1997)
- 5) 大久保公策, 遺伝子発現データベース, ボディマップ, 蛋白質核酸酵素, 42, 2822-2829 (1997)
- 6) Sasaki T., Song J., Koga-Ban Y., Matsui E., Fuang F., Higo H., Nagasaki H., Mori M., Miya M., Murayama-Kayano E., Takiguchi T., Takasuga A., Niki T., Ishimaru K., Ikeda H., Yamamoto Y., Mukai Y., Ohta I., Miyadera N., Havukkaia, I. and Minobe, Y., Toward cataloguing all rice genes: large-scale sequencing of randomly chosen rice cDNAs from a callus cDNA library, *Plant J.*, 6, 615-624 (1994)
- 7) 町田雅之, 麹菌ゲノム科学とバイオテクノロジー. 日本農芸化学会2002年度大会講演要旨集, p. 394 (2002)
- 8) 坂本和俊, 有馬寿英, 山田修, 秋田修, 麹菌 (*A. oryzae*) の固体培養特異的に発現する転写制御因子様遺伝子 *atfB* の解析. 日本農芸化学会2004年度大会講演要旨集, p. 155 (2004)
- 9) 松下真由美, 鈴木聡, 楠本憲一, 柏木豊, 黄麹菌 *Aspergillus oryzae* の AoHSP 30遺伝子とそのプロモーター解析. 日本農芸化学会2004年度大会講演要旨集, p. 155 (2004)
- 10) 松下真由美, 山口加奈子, 栗原洋子, 鈴木聡, 楠本憲一, 柏木豊, 黄麹菌における高温培養時に発現する遺伝子の探索. 日本農芸化学会2003年度大会講

演要旨集 , p . 180 (2003)

- 11) Machida, M., Asai, K., Sano, M., Tanaka, T., Kumagai, T., Terai, G., Kusumoto, K., Arima, T., Akita, O., Kashiwagi, Y., Abe, K., Gomi, K., Horiuchi, H., Kitamoto, K., Kobayashi, T., Takeuchi, M., Denning, D.W., Galagan, J. E., Nieman, W.C., Yu, J., Archaer, D.B., Bennett, J.W., Bhatnagar, D., Cleaveland, T.E., Fedorova, N.D., Gotho, O., Horikawa, H., Hosoyama, A., Ichinomiya, M., Igarash, R., Iwashita, K., Juvvadi, P.R., Kato, M., Kato, Y., Kin, T., Kokubun, A., Maeda, H., Maeyama, N., Maruyama, J., Nagasaki, H., Nakajima, T., Oda, K., Okada, K., Paulsen, I., Sakamoto, K., Sawano, T., Takahashi, M., Takase, K., Terabayashi, Y., Wortman, J.R., Yamada, O., Yamagata, Y., Anazawa, H., Hata, Y., Koide, Y., Komori, T., Koyama, Y., Minetoki, T., Suharnan, S., Tanaka, A., Isono, K., Kuhara, S., Ogasawara, N., Kikuchi, H., Genome sequence and analysis of *Aspergillus oryzae*. *Nature*, 438, 1157 - 1161 (2005)