

しょうゆづくりと麹菌の利用 — 今までとこれから —

国菌と呼ばれる麹菌はしょうゆづくりにおいて最も重要な微生物である。筆者にしょうゆの今までとして、しょうゆづくりにおける麹菌の役割としてのタンパク質の分解、日本の製麹法の確立としての撒麹、しょうゆのこれからとして、麹菌のゲノム解析、遺伝子組換え技術の発展におけるジーンターゲティング、グルタミナーゼの遺伝子レベルにおける役割の解析、圧搾性改良が期待されるマンナン分解酵素を制御する転写因子 ManR、麹菌がアフラトキシンを生産しない遺伝子レベルでの理由を解説いただいたので、麹菌を扱っている方はご一読いただきたい。

松 島 健 一 朗

1. はじめに

穀物などの原料にカビ（糸状菌）を接種してタンパク質、糖質を異化して酒や調味料を製造する文化、またその技術は東アジアでよく発達している。このようにして作られたカビの培養物を麹といい、そこに利用されるカビを麹菌という。麹発祥の地と思われる中国では *Rhizopus* 属や *Mucor* 属の菌などが利用されるが、日本においていわゆる麹菌とは主に *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae* を指す。それらのうちタンパク質分解能に優れている株がしょうゆ麹菌としてしょうゆ製造に利用される。本稿の前半ではしょうゆづくりにおいて麹菌がどのように利用されてきたかについて簡単に振り返り、後半では近年のしょうゆ麹菌に関わる研究成果を紹介しつつ、麹菌を利用したしょうゆ製造の将来について考える。

2. しょうゆづくりにおける麹菌の役割

しょうゆづくりにおける麹菌の役割を端的に言えば、タンパク質の分解ということになる。調味料としてうまみを醸すためには、原料であるダイズ、コムギのタンパク質を分解して、可溶性ペプチド・アミノ酸を生成し、特にうまみの素であるグルタミン酸含量を増加させることが重要である。そのためにプロテイナーゼ、

ペプチダーゼ、グルタミナーゼを効率的かつ高生産することが麹菌に求められる役割であり、その目的に沿ってしょうゆ麹菌は選択されてきたと考えられる。同じ麹菌を使っている清酒造りにおいても適度なアミノ酸は日本酒の旨味を構成し、コクを引き立てるものとされているが、多すぎれば雑味の原因となる。そもそも清酒造りの原料のコメに含まれるタンパク質はダイズほど多くはない。結果としてタンパク質分解酵素の重要性はしょうゆ麹菌においてより際立っている。

糖質分解酵素の働きで穀物原料は分解されその生産物である糖を資化して乳酸発酵、酵母発酵が行われる。清酒造りにおいては麹菌を選択する上で最も重要な要素である。しょうゆ醸造においても独特の風味、香気を生み出すために発酵は欠かせないものであり、そのための糖質分解酵素は重要であるが、やはりうまみを創造するためのタンパク質の分解の方が相対的に重要とされてきた。こうした目的の違いからしょうゆ麹菌と清酒造りのための麹菌とは異なった性質を持つものが選択されて来たと考えられる。現在しょうゆ麹菌には *Aspergillus oryzae* と *A. sojae* が³、清酒麹菌には *A. oryzae* が主に使われている。

3. 日本の製麹法の確立

カビを使って製麹をし、原料に含まれるタンパク質

の加水分解を促しアミノ酸の豊富な調味液（醬）をつくる技術は元々中国から伝わったものと考えられる。大陸では穀物を粉にして水で練ったものにクモノスカビ（*Rhizopus* sp.）、ケカビ（*Mucor* sp.）などをつけて餅麴（へいきく、もちこうじ）を作って酒・調味料の製造に用いていた¹⁾。それが日本に伝わったものと考えられているが、日本では穀物を蒸煮する習慣があり、そのため粒状の原料にカビをつける撒麴（ばらこうじ）が発展したと考えられている。また原料の蒸煮はしばしばタンパク質の過変性を引き起こす。そのような原料ではプロテイナーゼ活性の弱いクモノスカビは増殖能が低下してしまう。ところが日本に多く生育していたコウジカビはそのような条件でも良好に繁殖することが確認されている^{2,3)}。そうした事情から日本では麴菌としてコウジカビ（*Aspergillus* sp.）が利用されるようになったと考えられる。日本に来てその風土、習慣に合わせて姿を変えた麴の産業史的な変遷はおおよそ次のように考えられる。i) 13世紀に宋から持ち込まれた径山寺味噌から発祥したと言われる湯浅醤油は餅麴にクモノスカビを着生させて製麴をしていた。ii) 16世紀頃、蒸煮した原料を形成した味噌玉麴に麴菌を着生させて製麴されるようになった。iii) 17世紀頃、蒸煮した原料に麴菌を着生させる現在の製麴法に至った（第1表）⁴⁾。しょうゆ製造法は清酒造りの技術が多く転用されており、江戸期には酒造の副業としてしょうゆ製造を始めた者も多かったようである。その過程で原料処理、製麴、仕込み（乳酸発酵、酵母発酵）そして圧搾といった工程が確立していった。江戸末期にはしょうゆの製造工程はほぼ現在のものの原型にたどりついている⁴⁾。

戦後、生化学、および微生物学の成果を利用することで、しょうゆ製造は大きく成長した。終戦頃の原料タンパク質利用の歩留まりは60%台であった。しかしダイズの蒸煮によるタンパク質の過変性はプロテイナーゼによる可溶化を妨げることが分かり、適切な蒸煮法を確立することで原料タンパク質の利用率向上に成功した。またプロテイナーゼ活性を指標にしたスク

リーニング法が確立され、高プロテイナーゼ生産菌が育種された。これらの技術革新により、現在タンパク質の原料歩留まりは90%に達している⁵⁾。

4. 麴菌の分子生物学と麴菌の未来

微生物学の発展で、麴とは麴菌というカビの働きによって作られること、また麴菌はプロテイナーゼ、アミラーゼなどの酵素を分泌しその働きで原料を分解することが明らかになった。それ以降しょうゆ醸造における麴菌の育種はおもにタンパク質利用率の向上を目標に実施されてきた。しょうゆメーカーにとってはプロテイナーゼ高生産菌の育種は現在も続く課題である。

将来のしょうゆ製造を考えた時、麴菌の育種、特に分子生物学的な知見に基づいた育種は不可欠である。実用化にはいまだに越えるべきハードルが多く残っているが、技術的な基盤は整いつつある。後半では麴菌の分子生物学の発展から麴菌利用についての将来展望を考察する。

5. 麴菌のゲノム解析

麴は麴菌の働きによって作られている。つまり麴の働きを理解するためには、麴菌がどのように機能して成長し酵素を生産し原料を分解しているのかを精査する必要がある。その基盤として麴菌遺伝子の設計図である全ゲノムの塩基配列を決定することは不可欠である。2005年、*A. oryzae*の全ゲノムが*A. nidulans*, *A. fumigatus*と同時期に決定された⁶⁾。その後*A. niger*, *A. flavus*といった産業上あるいは公衆衛生上重要な*Aspergillus*属菌のゲノム配列が相次いで決定された⁷⁾。しょうゆ麴菌*A. sojae*は2011年に佐藤らによって決定されている⁸⁾。

しょうゆ麴菌*A. sojae*はゲノムサイズが37～39 Mbと他の*Aspergillus*属菌と比較して大きく、遺伝子数も多い（第2表）。*A. oryzae*と*A. sojae*を比較

第2表 *Aspergillus*属菌のゲノム解析⁷⁾

	Total size (Mb)	GC content (%)	Number of genes
<i>A. nidulans</i>	30.5	50.3	10,658
<i>A. fumigatus</i>	29.4	49.8	9,767
<i>A. oryzae</i>	37.9	48.2	11,886
<i>A. flavus</i>	36.8	48.4	12,604
<i>A. sojae</i> ⁸⁾	39.5	48.1	13,033

第1表 日本での製麴の変遷⁴⁾

しょうゆの形式	時代	菌	麴
湯浅しょうゆ	13世紀	クモノスカビ	餅麴
味噌玉式たまりしょうゆ	16世紀	コウジカビ	餅麴
本格しょうゆ	17世紀	コウジカビ	撒麴

すると *A. oryzae* では α -アミラーゼ遺伝子のコピー数が多い一方、*A. sojae* では特異的なプロテイナーゼが存在するなど、それぞれの菌の特徴がゲノム情報から伺える。今後 *A. oryzae*, *A. sojae* に属する多くの株や、他の *Aspergillus* 属菌のゲノム解析が進めばそれらの比較から種々な性質の推定、各々の種・株の進化的な類縁関係の解明、醸造特性の解明、二次代謝産物の生産機構の解明などが進展すると期待される。

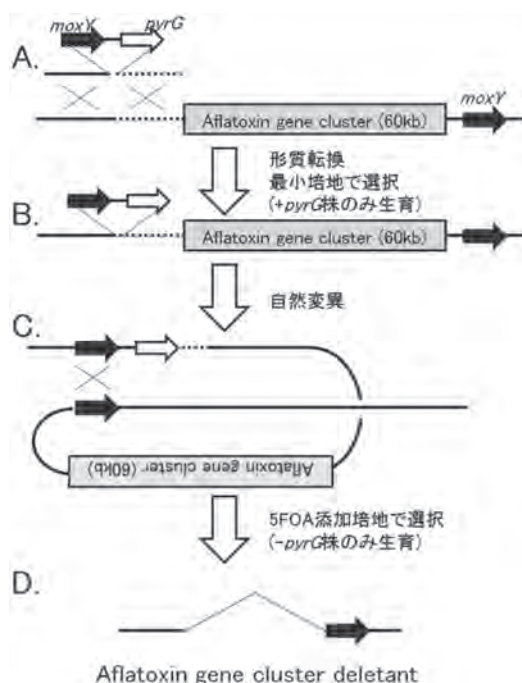
6. 遺伝子組換え技術の発展

遺伝子組換え技術は望ましい形質の増強・付与、好ましくない形質の抑制・除去を可能とし、将来の微生物育種の基盤技術になると考えられる。麹菌についても1987年に *A. oryzae* でアルギニン要求性をマーカーとした宿主-ベクター系が開発されたのを皮切りに、様々なマーカー、宿主-ベクター系の開発が行われている⁹⁾。しかし麹菌の形質転換には一つ大きな問題があった。目的遺伝子を乗せたベクターを染色体ゲノムに導入しようとする、予期せぬ遺伝子座にランダムに組み込まれる(非同相組換え)確率が高く、目的の遺伝子座に導入される効率が低いことであった。そのため①特定の遺伝子を破壊した変異体の作出が難しい、②ランダムに組み込まれたベクターがその遺伝子を破壊してしまい予期せぬ表現型を示す、③組み込まれた染色体上の位置の効果によって組み込まれた遺伝子が発現しないことがある、といった問題があった。その問題に対して高橋らは非同相組換えに関与する遺伝子 *ku70* または *ku80* を予め破壊した株を宿主に使用することで、非同相組換え効率を飛躍的に向上できることを見出した¹⁰⁾。この技術を利用して非同相組換え率が向上し、ジーンターゲットが可能になるとそれを応用した遺伝子操作法が一気に活用されるようになった。

ターゲットを確実にできるようになると、特定の遺伝子の破壊株を容易に作製することができるようになった。小川らは *A. oryzae* RIB40 株における転写因子と予測された約400遺伝子を抽出し、その破壊株ライブラリを作製した。そしてそのライブラリを様々な研究に活用している。得られた転写因子破壊株の形態観察から分生子形成に関与する新たな転写因子を見出した¹¹⁾。また後述するマンナン資化系を正に制御する転写因子 *manR* を見出した¹²⁾。さらに多く

の糸状菌でも網羅的破壊株ライブラリの作製が進めば、ゲノム解読で発見された機能未知の遺伝子のアノテーションが進展し、麹菌育種の一助になるであろう。

ターゲットが可能になるとマーカー遺伝子(例えば *pyrG*) をポジティブセレクションにもネガティブセレクションにも利用して非同相組換え領域をマーカーとともに組み込んだ後、選択圧をかけることで染色体上の任意の領域を欠失させることが可能になる(第1図)。高橋らはこの方法を利用すると染色体上の大領域を欠失させることを見出し、アフラトキシン合成遺伝子クラスターの全領域を欠落した株の作製を行った¹³⁾。現在では必須遺伝子を含んでいなければ、200~470 kb の領域を一度に欠失させることが可能



第1図 アフラトキシシンクラスター欠失株の作製¹³⁾

moxY と *pyrG* を組換えの標的部位で挟んだベクターを構築し *pyrG*⁻ 株の形質転換を行う(A)。ウリジン/ウラシルを含まない培地で選抜すると *moxY-pyrG* を含む組換え株のみが生育する(B)。*moxY-pyrG* 挿入株の分生子を5-フルオロオロチン酸(5FOA)を含む最小培地に播種する。導入した *moxY* と生来の *moxY* との間で非同相組換えが起こるとその中にある *pyrG* 遺伝子とアフラトキシン遺伝子クラスターが脱落する(C)。5FOA 培地では *-pyrG* 株のみが生育するので、目的のクラスター欠失株のみ生育する(D)。

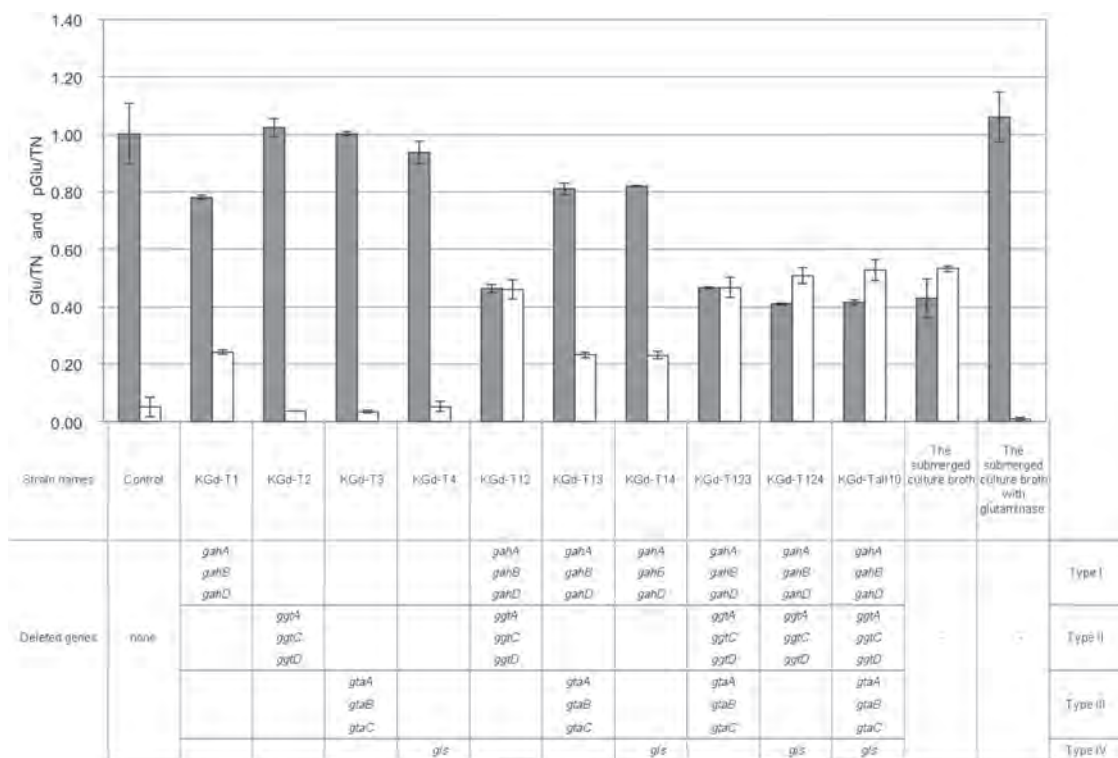
である¹⁴⁾。

金らはこの方法を応用して麹菌染色体の最小化を試みた¹⁵⁾。染色体を最小化して余剰と考えられる産業上不要な遺伝子を削除すれば、エネルギーや物質生産を有用な形質の発現に集中させることができる可能性がある。*A. oryzae* と、*A. nidulans*, *A. fumigatus* との比較ゲノム解析の結果、*A. oryzae* のゲノム上には種特異的な遺伝子群 (NSBs: non-syntenic blocks) が染色体上にモザイク状に分布することが報告されていた¹⁶⁾。これらは二次代謝関連遺伝子などほとんどが生育に必須ではない遺伝子と考えられた。特に NSBs が多く存在した 7 番染色体をターゲットとして上記の大領域欠失法を試みた結果、7 番染色体において 12 領域、合計 2.93 Mb の 24% にあたる 760 kb を欠失させることに成功した。この領域に含まれる遺伝子数は 313 であった。また並行して 8 番染色体についてもその 36% に当たる 1.2 Mb を削除した株の作製に成功している。さらに個別に作製してきた縮小された染色体一つの株に集約するため、細胞融合法を応用した。まず作製した 7 番染色体縮小株、8 番染色体縮小株の本来の遺伝子座にある *pyrG* 遺伝子、*niaD* 遺伝子を破壊した上で 7 番染色体縮小株の 7 番染色体に *pyrG* 遺伝子を、8 番染色体縮小株の 8 番染色体に *niaD* 遺伝子を導入した。すなわちそれぞれの縮小株は亜硝酸要求性、およびウリジン／ウラシル要求性を示すことになった。これらの株を各々プロトプラスト化し細胞融合し最小培地で再生させると、理論的には 7 番染色体縮小株と 8 番染色体縮小株の両方を保持した株のみが再生する。実際は半数体の融合株を取得するためにベノミル処理を必要としたが、縮小した 7 番、8 番染色体を保持した株を得ることに成功した¹⁷⁾。今後さらに不要領域の除去を進めることで、不要な酵素生産を抑制し有用物質生産に特化した菌株の開発につながるものと期待される。

7. グルタミナーゼの研究

しょうゆのうまみを構成しているのはタンパク質原料に由来するグルタミン酸と考えられている。グルタミン酸の生成経路はペプチダーゼの作用により原料から直接遊離する経路と、原料から遊離したグルタミンがグルタミナーゼにより加水分解されて生成する経路があると推測されている。グルタミンは非酵素的に呈

味性のないピログルタミン酸へ変換するので、グルタミナーゼによってグルタミンをグルタミン酸へ変換することはしょうゆ製造において重要な工程である。しょうゆ麹菌にはグルタミナーゼ遺伝子が 10 ～ 12 種類存在している。*A. sojae* で見つかったグルタミナーゼは Glutaminase-asparaginase に分類される Type I (GahA, GahB, GahC, GahD), γ -glutamyl transpeptidase に分類される Type II (GgtA, GgtB, GgtC, GgtD), 麹菌由来グルタミナーゼと相同性を示す Type III (GtaA, GtaB, GtaC), バクテリア (*Micrococcus luteus*) 由来グルタミナーゼと相同な Type IV (Gls) の 4 タイプ 12 種類が見つかった。それらのうち、いずれのグルタミナーゼがしょうゆ醸造に寄与しているかは分かっていなかった。伊藤らは *A. sojae* において種々のグルタミナーゼ遺伝子破壊株を作製したところ、*gahB* 破壊株で麹中のグルタミナーゼ活性が 90% 低下することを確認した。この結果は *A. oryzae* でも再現され、GahB が麹中で主要なグルタミナーゼであることを示した¹⁸⁾。さらにグルタミナーゼ多重破壊株を作製しそれらを使って小スケールでしょうゆを製造し、得られた実験室しょうゆ中の総窒素分に対するグルタミン酸量を測定、比較することでしょうゆ醸造工程における各タイプのグルタミナーゼの寄与を評価した (第 2 図)¹⁹⁾。Type I グルタミナーゼがグルタミン酸生産への寄与が大きく、Type I の欠失はコントロールに対して 20 ～ 30% グルタミン酸量が減少した。Type I を欠失した上で Type II を欠失するとグルタミン酸量は 50% 程度に低下し、さらに Type IV を欠失するとグルタミン酸量が低下した。Type IV グルタミナーゼは細胞内タンパク質であり、活性は強くはないが、耐塩性がある²⁰⁾ため、特に諸味中、醸造後期の寄与は無視できないものと思われた。Type I グルタミナーゼはペプチドグルタミナーゼ活性を示し、グルタミン単量体だけでなくカルボキシル末端にグルタミンをもつジペプチド・トリペプチドを基質とすることができる。これらのオリゴペプチドはロイシニアミノペプチダーゼ、酸性カルボキシルペプチダーゼによって、醸造期間中に徐々に分解されると考えられる。麹菌のグルタミナーゼは Type IV を除き耐塩性に乏しく、酸性側の至適 pH 域を示さないのも、もろみ中ではあまり機能しないと考えられる。Type I グルタミナーゼのペプチド



第2図 グルタミナーゼ遺伝子破壊株を用いて製造したしょうゆ中のグルタミン酸、ピログルタミン酸濃度(対全窒素比)¹⁹⁾

Aspergillus sojae BM-7を宿主としてグルタミナーゼ遺伝子をType毎に破壊した株を作製し、それを用いて製麹、しょうゆ醸造を行った。グレイバーがグルタミン酸濃度、オープンバーがピログルタミン酸濃度を示す。Submerged culture brothは麹菌の液体培養物で原料を分解した結果。グルタミナーゼが発現せずグルタミン酸濃度がコントロールの40%までしか示さないが、市販のグルタミナーゼを添加することで相補された(The submerged cututure broth with glutaminase)。破壊した各グルタミナーゼ遺伝子を下の表に、Typeを表最右のカラムに示した。

グルタミナーゼ活性がペプチド鎖中のグルタミンを予めグルタミン酸に変換しておくことで、より多くのグルタミン酸が生産されていると考えられる。Type Iに分類されるグルタミナーゼGahA, GahBはグルタミン酸含量を上げ、よりうまみの強いしょうゆ、あるいは醸造調味料を製造するために重要な酵素である。今後は種々のグルタミナーゼの発現をコントロールすることで、グルタミン酸含量の高い高付加価値のしょうゆ・調味料の製造に結びつくことが期待される。

8. 加水分解酵素

麹菌は多量の糖質分解酵素を分泌し、原料の多糖・オリゴ糖を分解する。それらは麹菌のエネルギーとし

て利用される以外に、乳酸発酵、アルコール発酵の基質となり、有機酸、香気成分、アルコールなどしょうゆの風味を構成する上で不可欠な成分を生成する。先に糖質の分解の重要性はしょうゆ麹菌では大きくはないと述べたが、それはあくまでタンパク質分解と比較した場合、あるいは清酒麹菌と比較して論じた場合の話であり、しょうゆ醸造においても糖質の分解がより効率的に行われることは当然重要な要素である。

一般的に *A. sojae* の糖質分解能は *A. oryzae* と比較して低いことが知られている。よりアミノ酸生産の大きな菌が継続的に選択されてきた結果そうになっているのかもしれない。ゲノム解析によって、*A. oryzae* は α -アミラーゼを3コピー持っているのに対し、*A.*

sojae は1コピーしか持っていないことが判明している。これだけで *A. sojae* の糖質分解能が低い理由とするのは早計かもしれないが、今後 *A. sojae*, *A. oryzae* 双方でより多くの菌株における酵素生産が検討され、*A. oryzae* と *A. sojae* の酵素生産性を制御しているメカニズムが解明されることを期待したい。

醸造過程で分解されなかった細胞壁などに含まれる難分解多糖類は圧搾工程後残渣となる。この圧搾残渣は飼料や燃料などの用途はあるものの、基本的には不要なものでできれば少ないに越したことはない。小川らは植物細胞壁の主要成分のひとつのヘミセルロースの構成成分であるグルコマンナン、ガラクトマンナンを分解する β -1,4-マンナナーゼ発現の活性化を目指した。そして麹菌転写因子破壊ライブラリからマンナン分解活性の低下した株をスクリーニングして、マンナン分解制御因子 *manR* を見いだした¹²⁾。*manR* によってコードされる転写因子 ManR は β -マンナンの分解産物であるマンノビオースによって誘導され、マンナナーゼなど多数のマンナン分解酵素にとどまらず、セルロース分解酵素の発現を促進することが分かっている。このような多糖分解系の制御因子の解析は、バイオマス分解など新たな産業への応用も期待される。

しょうゆ製造において麹菌に最も大きく期待される役割は、上述したように、原料のタンパク質をアミノ酸や可溶性ペプチドにまで分解することである。そのためプロテイナーゼ（プロテイナーゼ、ペプチダーゼ）の機能向上（制御あるいは比活性改善、耐塩性付与）や制御はしょうゆの研究において常に重要な課題である。しょうゆ麹において機能しているプロテイナーゼは、ゲノム解読以前はエンド型ペプチダーゼ（プロテイナーゼ）7種類、エキソ型ペプチダーゼ11種以上と見積もられていた²¹⁾。しかし *A. oryzae* のゲノムが解読されると、エンド型69種、エキソ型57種の計126種ものプロテイナーゼ遺伝子があることが明らかとなった⁵⁾。この数字は *A. niger* とほぼ同程度(127)で、*A. nidulans* (85) や *A. fumigatus* (94) よりも多かった。これらの遺伝子の翻訳産物の性質についてもその性質を明らかにするための研究が行われており²¹⁾、しょうゆ中での寄与について明らかにされることが期待される。

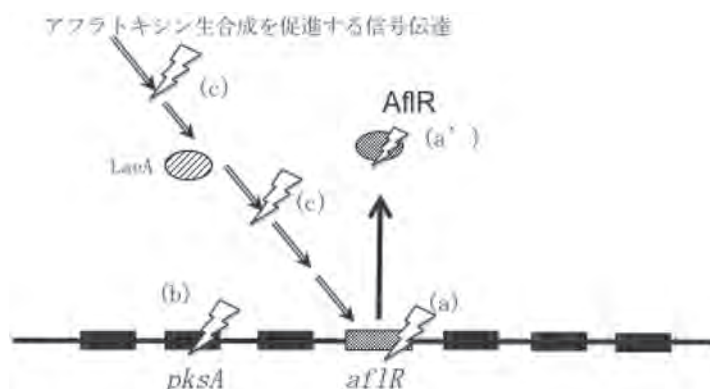
佐藤らは *A. sojae* のゲノムを解析し、プロテイナーゼ遺伝子の数を *A. oryzae* と比較した。しばしばし

ょうゆ麹菌として用いられる *A. sojae* はタンパク質分解酵素を多く分泌することが知られており、*A. oryzae* と比較するとプロテイナーゼの数や分布などに何らかの変化があるのでは、と期待されていた。しかし *A. sojae* と *A. oryzae* の間で総プロテイナーゼ数の違いは見いだせなかった⁸⁾。詳細に調べると、*A. sojae* 特異的なセリンカルボキシペプチダーゼやアスパルテイックプロテイナーゼが存在することが分かった。これらの特異的ペプチダーゼの働きや、醸造に対する寄与に関しては今後の研究が待たれる。現在のところゲノムの比較からは麹菌のタンパク質分解酵素・糖質分解酵素生産の違いや制御を説明することは難しい。しかしながら清酒麹菌としょうゆ麹菌双方で、より多くの株のゲノム解読が進むと共に、ウェットでの実験結果が蓄積していくことで、大きな進展があることを期待したい。

9. 麹菌の二次代謝

糸状菌は多くの二次代謝産物を産生する。それらの中にはペニシリンのように有用なものがある一方、マイコトキシンと呼ばれる人間にとって有毒な物質もある。*A. flavus*, *A. parasiticus* はアフラトキシンと呼ばれる強い発がん性物質を生産する。その近縁種である麹菌がアフラトキシンを生産しない理由は、長年の間不明であったが、分子生物学の手法でその機構が明らかにされた²²⁾。

アフラトキシン生合成は AflR という転写因子によって制御されていることが既に知られていた。筆者らは *A. sojae* 由来 *aflR* 遺伝子にナンセンス変異が存在すること、予測される AflR タンパク質は転写活性化領域を含むカルボキシル末端側の62アミノ酸が欠失していること、そのために転写因子活性を失っていることを見出した²³⁾。またその変異は *A. sojae* で保存されていた²⁴⁾。また *A. sojae* にはアフラトキシン生合成に関与する遺伝子クラスターが保存されているが、それらの遺伝子は発現していないことも確かめられた。高橋らはアフラトキシン生産株 *A. parasiticus* の *aflR* 破壊株を作製し、アフラトキシン生産は *A. parasiticus* 由来 *aflR* では相補されるが *A. sojae* 由来 *aflR* では相補されないことを確かめた²⁵⁾。上記からしょうゆ麹菌 *A. sojae* は *aflR* の変異のためにアフラトキシンを生産しないことが明らかになった。そもそも麹菌で



第3図 *Aspergillus sojae* におけるアフラトキシン生合成停止のメカニズム

(a) *aflR* にプレターミネーションがあるため、発現するタンパク質 AflR も機能を失っているか、大きく低下しており、他のクラスター中の遺伝子の発現を促進出来ない。(b) クラスター内の遺伝子 *pksA* に変異があり、コードされる酵素は機能を失っていると考えられる。(c) アフラトキシン生合成を促進する信号伝達系がどこかで機能していないため、*aflR* や他のアフラトキシン関連遺伝子の発現が促進されない。ただしどこで信号伝達が遮断されているのかは不明である。

は *aflR* は転写されておらず、生合成の上流部分がアフラトキシン生産菌とは異なっていることが推測されている²⁴⁾。さらにはアフラトキシン生合成の重要な中間体を合成する遺伝子である *pksA* にもナンセンス変異があり²⁶⁾、かりに機能をもつ AflR が発現しても麹菌ではアフラトキシンが作られる可能性はない(第3図)。以上のように *A. sojae* においてはアフラトキシン生合成遺伝子クラスターが存在するものの、アフラトキシンを生産し得ないことが分子生物学的に示された。

もうひとつのしょうゆ麹菌 *A. oryzae* についてはゲノムの解析からアフラトキシンを生産しないことが明らかになっている。*A. oryzae* に分類される株のアフラトキシン生合成クラスターの有無を調べた所、58%の株ではクラスターの全長を保持していたが、37%ではクラスターの40 kbを欠失していた。欠失した遺伝子には *aflR* も含まれた。残るグループではさらに16 kbが失われていた²⁷⁾。*aflR* を含む領域が欠失しているのはアフラトキシンを生合成することは不可能である。欠失のパターンが限られていることから、それぞれの共通の祖先からグループが分かれて来た事が示唆される²⁸⁾。また *A. oryzae* 株のEST解析ではアフラトキシン生合成遺伝子や転写因子 *aflR* の発現は認められておらず²⁹⁾、*A. sojae* と同様のメカニズムでアフラトキシン生産が停止していることが示唆された。

このように麹菌は幾つもの変異を持つためにマイコトキシンの生産が行われなくなっている。*Aspergillus* 属の多くの種、株についてゲノム情報が解明され、細かく比較ゲノムが行われる事で麹菌が馴化されてきた来歴も徐々に明らかにされるものと期待される。また高橋らは *A. sojae* のアフラトキシンクラスター欠失株を作製している¹³⁾。ミニマムゲノムのところでも触れたが、将来的にはこのように人為的にマイコトキシンを始めとする不要な二次代謝遺伝子クラスターを欠失させた株の利用も一般的になるかもしれない。

10. おわりに

しょうゆの歴史の中で麹菌がどのように捉えられてきたかを振り返り、さらに最近の研究成果から将来への期待を考えてみた。麴を作り穀物のタンパク質を分解してうまみを創造する技術は日本の食文化にとって不可欠の要素である。そしてそれに利用される麹菌はまさに国菌³⁰⁾と呼ぶにふさわしい。ユネスコ無形文化遺産に登録されたことで「和食」は今後ますます世界の注目を浴びるだろう。そして麹菌の研究はますます重要性を増すであろう。

〈キッコーマン(株)〉

参考文献

- 1) 村上英也 (編): 麹学, (財) 日本醸造協会 (1986)
- 2) 田中利雄, 岡崎直人: 醗酵工学, **60**, 11-17 (1982)
- 3) 田中利雄ら: 醸協, **77** (10), 831-835 (1982)
- 4) 川田正夫: 「日本の醤油」 三水社 (1991)
- 5) 林和也: 近代日本の創世史, **5**, 14-23 (2008)
- 6) M. Machida *et al.*: *Nature*, **438**, 1157-1161 (2005)
- 7) Fungal Genetics Stock Center: <http://www.fgsc.net/>
- 8) A. Sato *et al.*: *DNA Res.*, **18**, 165-176 (2011)
- 9) 丸山潤一, 北本勝ひこ: 北本勝ひこ (編), 改訂版分子麹菌学, (公財) 日本醸造協会, 22-29 (2012)
- 10) T. Takahashi *et al.*: *Mol. Genet. Genomics*, **275**, 460-470 (2006)
- 11) M. Ogawa *et al.*: *Fungal. Genet. Biol.*, **47**, 10-18 (2010)
- 12) M. Ogawa *et al.*: *Fungal. Genet. Biol.*, **49**, 987-995 (2012)
- 13) T. Takahashi *et al.*: *Appl. Environment. Microbiol.*, **74**, 7684-7693 (2008)
- 14) 小山泰二ら: 化学と生物, **50**, 577-583 (2013)
- 15) F. J. Jin *et al.*: *Mol. Genet. Genomics*, **283**, 1-12 (2010)
- 16) K. Tamano *et al.*: *Fungal Genet. Biol.*, **45**, 139-151 (2008)
- 17) S. Hara *et al.*: *Mol. Genet. Genomics*, **287**, 177-187 (2012)
- 18) K. Ito *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **97**, 8581-8590 (2013)
- 19) Ito, K., *et al.* *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 1832-1840 (2013)
- 20) 柄倉六三郎 (編): 醤油の科学と技術, (財) 日本醸造協会 (1988)
- 21) 竹内道雄: 北本勝ひこ (編), 改訂版分子麹菌学, (公財) 日本醸造協会, 188-197 (2012)
- 22) 松島健一郎: 醸協, **97** (8), 559-566 (2002)
- 23) K. Matsushima *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **55**, 585-589 (2001)
- 24) K. Matsushima *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **55**, 771-776 (2001)
- 25) T. Takahashi *et al.*: *Appl. Environment. Microbiol.*, **68**, 3737-3743 (2002)
- 26) P. -K. Chang *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **76**, 977-984 (2007)
- 27) M. Tominaga *et al.*: *Appl. Environment. Microbiol.*, **72**, 484-490 (2006)
- 28) Y. H. Lee *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **72**, 339-345 (2006)
- 29) T. Akao *et al.*: *DNA Res.*, **14**, 47-57 (2007)
- 30) 日本醸造学会: <http://www.jozo.or.jp/koujikin-nituite2.pdf>

執筆者紹介 (順不同・敬称略)

松島健一郎 < Kenichiro MATSUSHIMA >

昭和 41 年 11 月 14 日生まれ <勤務先と所在地> キッコーマン株式会社研究開発本部環境・安全分析センター 〒 278-0037 千葉県野田市野田 399 <略歴> 平成 4 年東京大学大学院農学系研究科修士課程修了, 同年キッコーマン株式会社入社。研究本部, 研究開発本部勤務, 現在に至る。博士 (農学)。<抱負> 微生物の研究を通じ, 微生物との共生を図りたい。<趣味> ヨガ, ジョギング。

山本将悟 < Syogo YAMAKI >

平成元年 4 月 30 日生まれ <勤務先と所在地> 北海道大学大学院水産科学院水産食品科学分野 〒 041-8611 北海道函館市港町 3-1-1 <略歴> 平成 24 年 3 月北海道大学水産学部資源機能化学科卒業, 平成 26 年 3 月同大学大学院水産科学院海洋応用生命科学専攻博

士前期課程修了, 平成 26 年 4 月同大学同専攻博士後期課程入学, 現在に至る。<抱負> 微生物制御技術の発展に貢献したい。<趣味> バドミントン, ドライブ。

山崎浩司 < Koji YAMAZAKI >

昭和 42 年 8 月 15 日生まれ <勤務先と所在地> 北海道大学大学院水産科学研究院水産食品科学分野 〒 041-8611 北海道函館市港町 3-1-1 <略歴> 平成 4 年北海道大学大学院水産学研究科水産食品学専攻博士後期課程中途退学, 平成 5 年北海道大学水産学部助手, 平成 10 年同大学水産学部助教授, 平成 13 ~ 14 年文部科学省在外研究員 (米国ニュージャージー州立大学ラトガーズ大学食品科学科), 平成 19 年同大学大学院水産科学研究院准教授, 現在に至る。<抱負> 美味しく安全な食品の製造・流通に貢献したい。<趣味> スポーツ観戦, スキー。