

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19062

研究課題名（和文）麹菌の核増加の分子機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular mechanism of nuclear increase in *Aspergillus oryzae*

研究代表者

竹下 典男（Takeshita, Norio）

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：20745038

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：コウジカビ *Aspergillus oryzae* の核を蛍光標識し、培養経過と共に細胞内の核の数が増加する現象を発見した。核の増加と酵素生産性には相関があることが予想され、麹菌の高い酵素生産性に関わる表現型の可能性がある。ライブイメージング解析により核が増加する菌糸が分岐により出現すること、時間の経過とともに核の多い菌糸が優占することが示された。トランスクリプトーム解析により核が増加する条件下で発現量が上昇する遺伝子群が明らかになった。ゲノム情報が明らかとなった実用株の近縁種で表現型を解析した。異なる表現型を示す同一クレード内の株を対象に、ゲノム比較解析を行い、核の増加に関わる候補遺伝子を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

長い年月をかけて育種されてきた糸状菌 *A. oryzae* の特殊性を活かし、これまで知られていなかった *A. oryzae* の高い酵素分泌能を特徴付ける新しい性質「核の増加の分子機構」を解明する研究である。糸状菌は、有用酵素・化合物生産の宿主に利用され、バイオ産業で重要な微生物である。本研究により分子機構が明らかになれば、糸状菌の種によらず、これまでになく有用糸状菌株の作製に繋がり、応用利用への影響が大きい。

研究成果の概要（英文）：The nuclei of the yeast fungus *Aspergillus oryzae* were fluorescently labeled, and a phenomenon was discovered in which the number of nuclei in the cells increased over the course of culture. The increase in nuclei is expected to correlate with enzyme productivity, and may be a phenotype associated with the high enzyme productivity of *Aspergillus oryzae*. Live imaging analysis showed that hyphae with increased nuclei appear by branching, and that hyphae with more nuclei become dominant over time. Transcriptome analysis revealed a group of genes whose expression levels increase under the condition of increased nuclei. Phenotypes were analyzed in closely related species of practical strains for which genome information was available. Comparative genomic analysis of strains in the same clade showing different phenotypes was conducted, and candidate genes involved in nuclear gain were obtained.

研究分野：農芸化学

キーワード：麹菌 酵素生産 多核

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本の国菌に指定されているコウジカビ *Aspergillus oryzae* は、古くから酒・味噌・醤油などの醸造醗酵に利用されてきた。この製造の過程で糸状菌の一種である *A. oryzae* は、蒸した米や大豆に孢子として植え付けられ、孢子から菌糸と呼ばれる管状の細胞を伸ばし、米や大豆の表面や内部に菌糸を侵入させることで生長する。この際、*A. oryzae* は、デンプン・タンパク質などを分解する酵素を大量に分泌し、分解産物を栄養として吸収し生長する。このような菌糸生長による物理的・化学的な米・大豆の分解が、続いて起こる酵母や乳酸菌による醗酵に重要であり、酒・味噌・醤油などの品質に大きく影響する。

A. oryzae が醸造醗酵に利用されてきた最大の特徴として、糖質・タンパク質分解酵素を大量に分泌する能力が挙げられる。現在、*A. oryzae* は有用酵素生産の宿主としてバイオ産業でも幅広く利用されている。これまでに産学の研究機関で、関連する遺伝子・酵素の機能や発現制御機構などが勢力的に研究されてきた。2015年には、*A. oryzae* と糸状菌のモデル生物 *Aspergillus nidulans*、病原糸状菌 *Aspergillus fumigatus* の計3種のゲノムが同時に公開され、*A. oryzae* のゲノムには糖質・タンパク質の代謝に関わる遺伝子が多いことが示されている。*A. oryzae* を特徴付ける性質の解明と応用利用を目的に、現在もゲノム編集など様々な解析が進められている。

2. 研究の目的

コウジカビ *Aspergillus oryzae* の核を蛍光標識し、培養経過と共に細胞内の核の数が増加する現象を発見した。このような核の増加は、他の *Aspergillus* 属において前例がなかった。核の増加と酵素生産性には相関があることが予想され、麹菌の高い酵素生産性に関わる表現型の可能性がある。そこで、その表現型に関わる分子機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

ライブイメージング解析により核が増加する菌糸がどのように現れるか解析した。核が増加する条件を探索し、核の増加とアミラーゼ酵素活性の相関を解析した。トランスクリプトーム解析

により核が増加する条件で発現量が上昇する遺伝子群を探索した。ゲノム情報が明らかとなった実用株の近縁種で表現型を解析する。異なる表現型を示す株を対象に、ゲノム比較解析を行い、核の増加に関わる候補遺伝子を探索する。これらの遺伝子破壊、遺伝子高発現、遺伝子置換により表現型に関わる遺伝子の機能解析を進める。

4．研究成果

ライブイメージング解析により核が増加する菌糸が分岐により出現すること、時間の経過とともに核の多い菌糸が優占することが示された。培地に酵母エキスを加えると核が増加することが示され、核の増加とアミラーゼ酵素活性の相関も示された。トランスクリプトーム解析により核が増加する条件で発現量が上昇する遺伝子群が明らかになった。細胞壁関連、細胞膜関連、カルシウムの恒常性に関わる遺伝子があった。ゲノム情報が明らかとなった実用株の近縁種で表現型を解析したところ、核が増加する株としない株が確認された。異なる表現型を示す同一クレード内の株を対象に、ゲノム比較解析を行い、ORF 内に変異がある遺伝子をいくつか見出した。これらのことから、核の増加に関わるいくつかの候補遺伝子が得られた。これらの遺伝子破壊、遺伝子高発現、遺伝子置換により表現型に関わる遺伝子の機能解析を進めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹下典男
2. 発表標題 麹菌の酵素生産能に関わる細胞形質
3. 学会等名 発酵と代謝研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Norio Takeshita, Ken Oda	4. 発行年 2023年
2. 出版社 John Wiley & Sons, Ltd	5. 総ページ数 6
3. 書名 Microbial Fermentations in Nature and as Designed Processes	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 糸状菌のスクリーニング方法及び糸状菌用培養条件のスクリーニング方法	発明者 竹下典男	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2023-191194	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	織田 健 (Oda Ken) (10434466)	独立行政法人酒類総合研究所・研究部門・主任研究員 (85403)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------