

麹菌のタンパク質分解酵素

山形 洋平

麹菌 (*Aspergillus oryzae*) は、味噌、醤油、日本酒など日本が世界に誇る醸造食品の生産に不可欠な微生物である。味噌や醤油などの伝統的醸造調味料の生産に麹菌が用いられてきたのは、その高いタンパク質分解酵素活性によるものと考えられる。タンパク質分解酵素は、ペプチド結合に作用し、タンパク質やペプチドを加水分解する酵素の総称である。味噌、醤油の醸造においては、糖質分解酵素による多糖類の分解や核酸分解酵素による核酸の分解と並んで、麹菌のタンパク質分解酵素によって、原料となる穀物のタンパク質が分解され、呈味性を持つペプチドやアミノ酸にまで分解することが重要である。

2005年に麹菌ゲノム解析が終了し、麹菌は、約12,000遺伝子を持つことが明らかになった¹⁾。この中にタンパク質分解酵素遺伝子は126存在していると推定された²⁾。同時期に解析が行われた³⁾ *Aspergillus nidulans*には85、*Aspergillus fumigatus*には94遺伝子が見出された。麹菌のタンパク質分解酵素の推定アミノ酸配列を系統樹解析とMEROPSのタンパク質分解酵素分類とで再分類すると、69のグループに分けられる。このほとんどが、いずれの*Aspergillus*にも保存されており、これが*Aspergillus*タンパク質分解酵素の最小ユニットなのかもしれない。それぞれの*Aspergillus*は、その目的に応じてこの分類グループ中の遺伝子数を調節し、進化してきたようである。

竹内らがタンパク質分解酵素をコードすると推定される全遺伝子を発現させ、機能解析を行ったところ、麹菌は酸性で働く菌体外タンパク質分解酵素と、細胞内ペプチダーゼを数多く生産しうることが明らかとなった²⁾。細胞外で酸性条件で働く酵素は、28存在し、タンパク質分解酵素の22%に相当する。その内訳は、アスパルティックプロテアーゼ11種、セリンカルボキシペプチダーゼ12種、アオルシン2種、トリペプチジルペプチダーゼ3種、である。一方、*A. nidulans*では順に、7、5、1、3の計16種、*A. fumigatus*でも同様に7、8、1、3の計19種の遺伝子しか推定されていない。このことから、いかに麹菌が酸性側で働く酵素を多量に生産しようとしているかが分かる。細胞内には29種ものアミノペプチダーゼと10種の金属カルボキシペプチダーゼが存在する。*A. nidulans*では、それぞれ22種と5種、*A. fumigatus*では20種と6種の遺伝子しか存在しないと考えられている。

麹菌は、細胞外に酸を生産する。これらの酸性で働く多種の細胞外酵素の存在が、酸性下で進行する醸造過程では有利に働いていると考えられた。さらに、長期の熟成期間でタンパク質の分解を進めていくと菌体も自己消化し、細胞中のタンパク質分解酵素が醸造過程に参加する。その際に働くのが上記のアミノペプチダーゼとカルボキシペプチダーゼであろう。麹菌アミノペプチダーゼ

には、酸性アミノ酸をペプチドのアミノ末端から特異的に遊離するものやプロリン、システインを特異的に遊離するものなど、多様な特異性を持つ酵素があることが明らかにされており、さまざまなアミノ酸配列に対応できる仕組みが構築されている事を示している²⁾。一方、カルボキシペプチダーゼもカルボキシル末端からグルタミン酸を選択的に遊離する酵素やアルギニンを特異的に遊離するものなど、こちらもバラエティに富んでいる²⁾。

しかし、これら多数の遺伝子は本当に発現しているのだろうか。また、生育条件などによる発現制御を受けているのであろうか。Wooらは、麹菌を液体培養し、次世代シーケンサーを用いて転写解析を行った⁴⁾。この結果、アスパルティックプロテアーゼ遺伝子は11種中9種、カルボキシペプチダーゼはすべて、アオルシンは1種、トリペプチジルペプチダーゼもすべてが転写されていた。また、菌体内のアミノペプチダーゼ28種、カルボキシペプチダーゼ9種の転写も確認できた。驚くべきことに、転写量の違いがあるにせよ大部分の遺伝子が転写されていたのだ。

ところが、最近になって麹菌のタンパク質分解酵素は、転写が開始されただけではすんなりと酵素生産にまで進めない可能性が示されてきた。竹内らは²⁾、金属プロテアーゼで一部のイントロンのスプライシングが生じにくく、不完全なmRNAが作られ、本来生産されるはずのタンパク質の翻訳が抑制されていることを見いだした。また、久保島らは、カルボキシペプチダーゼで、培養条件による選択的スプライシングが生じることを明らかにし、転写開始後の酵素生産制御機構の可能性を示している⁵⁾。タンパク質分解酵素は両刃の剣である。多数の遺伝子を持てば、外界からの窒素源摂取には有利だが、その生産制御を正しく行わなければ、麹菌自身をも分解してしまう。そのために、麹菌は転写制御だけではなく、転写開始後の制御機構を持ち、多数の遺伝子からの酵素生産を制御しているのかもしれない。

このような制御機構を獲得した麹菌は、タンパク質分解能力を高めることが可能になり、日本人は、この能力を鋭い観察力と深い洞察力で認識し、麹菌の育種を通じて醸造技術を高めてきたと言えるのではないだろうか。

(本稿中の遺伝子数などは、生研センター基礎研究推進事業報告²⁾によるものである)

- 1) Machida, M. *et al.*: *Nature*, **438**, 1175 (2005).
- 2) 農研機構・基礎研究推進事業研究成果集 (2010年度修了課題), p. 9 (2011).
- 3) Galagan, J. E. *et al.*: *Nature*, **438**, 1105 (2005).
- 4) Wan, B. *et al.*: *Nucleic Acid Res.*, **38**, 5075 (2010).
- 5) 久保島ら: 日本農芸化学会大会要旨集, p.124 (2011).