

## 麹菌ゲノム情報から知る醤油の話

辻 聡

醤油は大豆と小麦、食塩を発酵熟成させて造られる、300種以上の香気成分と旨味、塩味、甘味、酸味、苦味の5味により醸し出される複雑な味を持つ日本の代表的な発酵調味料の一つである。本稿では、醤油醸造に関わる麹菌のゲノム情報を基盤とした最新の研究を紹介することで、醤油の食品としての安全性がどのような知見をもとに担保されるのか、また、醤油の旨味がどのように醸成されるのかを概説する。

国内でもっとも消費量の多いこいくちしょうゆ（濃口醤油）の一般的な醸造方法では、はじめに蒸煮大豆と炒って砕いた小麦の混合物に麹菌（*Aspergillus oryzae*あるいは*A. sojae*）分生子を接種し、温度と湿度、通気条件を管理して菌糸を繁茂させ、多量の菌体外加水分解酵素を産生させる製麹工程を経て醤油麹を作る。次に、醤油麹と食塩水を混合することで諸味を調製する。約6か月の熟成工程中に好塩性乳酸菌および耐塩性酵母が増殖し、有機酸や醤油特有の香気成分を生成する。ろ過により得られた生醤油に火入れといわれる低温殺菌を行い、製品醤油となる。日本農林規格では上述の濃口醤油の他に、うすくちしょうゆ（淡口醤油）、たまりしょうゆ（溜醤油）、さいしこみしょうゆ（再仕込み醤油）、しろしょうゆ（白醤油）の計5種が分類される。各醤油の詳細な製法に関しては、優れた成書が多数あるのでそれらを参照されたい。

麹菌は醸造をはじめとして、食品加工用酵素や有用異種タンパク質の製造など、種々の分野において応用されている産業上きわめて重要な微生物であり、2006年に日本醸造学会により国菌に認定されている。その一方で、*A. oryzae*および*A. sojae*はそれぞれ、カビ毒アフラトキシンを産生する*A. flavus*および*A. parasiticus*の類縁種でもある。日本での長い食経験の歴史から、麹菌は安全であると認識されており、かつアフラトキシンの発見以降における国内での集中的な研究から、麹菌はいかなる状況下でもアフラトキシンを産生しないことが証明されていた。しかし、2005年に野生株である*A. oryzae* RIB40株の完全ゲノム配列が決定され、同株は*A. flavus*と同様のアフラトキシン合成遺伝子クラスターをほぼ完全な形で保持することが明らかとなった<sup>1)</sup>。そこで、実生産菌を含めたさまざまなRIB株における、同遺伝子クラスターの構造解析が行われた。供試した210株のうち約60%がRIB40株型（グループ1）であり、のこり約40%ではクラスター内で大規模欠失が生じていた

（グループ2および3）。グループ1に属する株に関しては、さらにEST解析が行われ、2遺伝子を除き、残りの生合成遺伝子群は転写されないことが示された。2011年には、醤油用麹菌*A. sojae* NBRC4239株のドラフトゲノム配列が決定された<sup>2)</sup>。同株もほぼ完全なアフラトキシン合成遺伝子群を保持していたが、転写因子をコードする遺伝子内にナンセンス変異が導入されており、変異型AflRは標的遺伝子群に対する転写促進能を欠損していた。上記から、長い食経験から知られていた麹菌のアフラトキシン非生産性が、遺伝子レベルでも改めて証明された。

また、麹菌のゲノム情報をもとに、醤油の旨味の主成分であるグルタミン酸の生成機序が明らかにされつつある。醤油に含まれるグルタミン酸は、麹菌由来加水分解酵素による原料タンパク質の分解により直接遊離する、あるいは同様の加水分解で生じたグルタミンが、麹菌グルタミナーゼにより脱アミド化されることで生成する。醤油の旨味増強の観点から麹菌グルタミナーゼの重要性が示唆されていたが、その詳細に関しては不明な点が多かった。*A. sojae* NBRC4239株ゲノム配列に対する相対性検索の結果、同株は細胞における局在性や基質特異性の異なる10個のグルタミナーゼを保持すると推測された。一連の遺伝子破壊実験から、3つの細胞壁結合型（GahA, GahB, およびGgtA）、および1つの細胞質型グルタミナーゼ（Gls）が、グルタミン酸生成において中心的な役割を果たしていることが明らかとなった<sup>3)</sup>。特にGahAおよびGahBはペプチドグルタミナーゼ活性も有しており、醤油の旨味成分として知られる、C末端にグルタミン酸残基を持つオリゴペプチドの生成にも関与すると考えられている<sup>4)</sup>

このように麹菌ゲノム情報を活用した興味深い研究が多数展開されているが、機能が決定された遺伝子は一部にすぎず、醤油の香味醸成に寄与しうる酵素タンパク質やそれらによって産生される代謝産物に関しても依然不明な点が多い。身近に存在する調味料である醤油についてもまだまだ研究課題は溢れており、興味は尽きない。

- 1) Machida, M. *et al.*: *Nature*, **438**, 1157 (2005).
- 2) Sato, A. *et al.*: *DNA Res.*, **18**, 165 (2011).
- 3) Ito, K. *et al.*: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 1832 (2013).
- 4) Ito, K. *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **78**, 5182 (2012).