

琉球大学学術リポジトリ

発酵・生命科学分野発酵微生物研究室の研究活動および成果報告

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2021-04-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 水谷, 治, 外山, 博英, Mizutani, Osamu, Toyama, Hirohide メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/48116

〔研究活動および成果報告〕

発酵・生命科学分野発酵微生物研究室の研究活動および成果報告

水谷 治*, 外山 博英

琉球大学農学部亜熱帯生物資源科学科発酵・生命科学分野

Report of research activities and achievements of Fermentation and Life Science Area

Osamu MIZUTANI*, Hirohide TOYAMA

Study field of Fermentation and Life Science, Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of the Ryukyus

*Corresponding author (E-mail: mizutani@agr.u-ryukyu.ac.jp)

亜熱帯生物資源科学科発酵・生命科学分野では、地域特性を生かした発酵食品の研究や発酵微生物の有効利用、ならびに亜熱帯生物資源の生命現象の解析とその応用に関する研究を行っております。本研究活動および成果報告では、我々の研究室（発酵微生物学研究室）で取り組んでいる研究の中から、泡盛醸造に使用されている黒麹菌の研究成果についてご紹介します。

黒麹菌は、味噌、醤油、清酒醸造に使用されている黄麹菌と同様に日本を代表する重要な産業微生物であり、日本醸造学会より国菌として認定されています。2016年に黒麹菌のゲノム解析が行われ、約 35 Mb のゲノムサイズを有し、約 12000 個の遺伝子数を持つことが明らかにされています。しかしながら、黄麹菌と比較して、黒麹菌は、分子生物学的研究が大きく遅れており、これら遺伝子の機能解析は、他の微生物等の相同性からの機能推察のみで、殆どの遺伝子は未調査のままとなっております。これは黒麹菌の研究者が少ないことも一因ですが、遺伝子解析に必須技術である遺伝子破壊や遺伝子導入といった黒麹菌の形質転換法の確立がなされていないことにありました。黄麹菌を含む糸状菌は、一般的に市販の細胞壁溶解酵素を用いて、プロトプラストを作成し、外部から DNA を導入するプロトプラスト・PEG 法により形質転換が行われています。一方、黒麹菌は、市販の細胞壁溶解酵素ではプロトプラスト形成が全くされないため、形質転換法はプロトプラスト・PEG 法ではなく、アグロバクテリウムを介した方法で行われていました。このアグロバクテリウム法は宿主の黒麹菌株との相性等、検討することが多いため、新しく黒麹菌の研究を始めようとする研究者には、二の足を踏ませる因子の一つでした。そこで我々は、黒麹菌でプロトプラスト・PEG 法による形質転換が行えるよう研究を行いました。その結果、プロトプラスト形成を阻害する遺伝子、 α -1,3-グルカン合成酵素遺伝子 (*agsE*) を同定し、その破壊株 (Δ *agsE*) を宿主にすると市販の細胞壁溶解酵素のみでプロトプラスト形成が可能となり、プロトプラスト・PEG 法による形質転換が行えることを明らかにしました (Fig.1)¹⁾。加え

て、 Δ *agsE* 株を宿主に対して、他の遺伝子の破壊や挿入を行った後に、そのターゲット遺伝子の表現型観察等が行いやすいように *agsE* 遺伝子相補用プラスミドも作成しました。一方で、これらの株やプラスミドを用いる上で、形質転換に使用できるマーカー遺伝子の数が足りなくなることが予想されたので、アゾール系抗真菌剤、イトラコナゾールに耐性化を付与するマーカー遺伝子の開発を行いました。その結果、黄麹菌及び黒麹菌で利用可能なイトラコナゾール耐性遺伝子マーカー (*itrA*) の開発に成功し、論文投稿を行いました²⁾。本遺伝子マーカーは、複数の麹菌で利用可能な薬剤耐性マーカー遺伝子として 2 例目の報告となっております。上述の黒麹菌 Δ *agsE* 株や *itrA* マーカー遺伝子を多くの方に利用してもらうことで、黒麹菌の研究が盛んになって行けば幸いです。

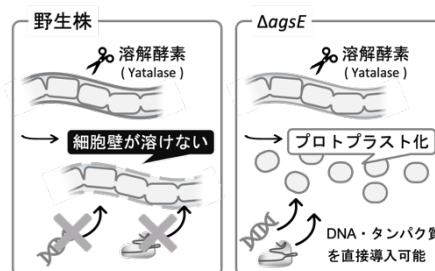


Fig. 1 黒麹菌 Δ *agsE* 株におけるプロトプラスト形成の概略図

文献

- 1) Tokashiki J, Hayashi R, Yano S, Watanabe T, Yamada O, Toyama H, Mizutani O. 2019. Influence of α -1,3-glucan synthase gene *agsE* on protoplast formation for transformation of *Aspergillus luchuensis*. J. Biosci. Bioeng., 128(2): 129-134.
- 2) Tokashiki J, Toyama H, Mizutani O. 2021. Development of an itraconazole resistance gene (*itrA*) as a dominant selectable marker for transformation in *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus luchuensis*. Biosci. Biotechnol. Biochem., in press.