

1Gp20 次世代シーケンサーSOLiDを用いた泡盛黒麹菌の比較ゲノム解析

○塚原 正俊^{1,2}, 照屋 盛実^{3,2}, 喜久里 育也^{4,2}, 藤森 一浩^{5,2}, 今田 有美^{1,2}, 鼠尾 まい子^{1,2}, 小池 英明^{5,2}, 佐藤 友紀^{4,2}, 矢野 修一^{1,2}, 三輪 友希乃^{1,2}, 神野 浩二⁶, 堀川 博司⁶, 櫛田 憲弘⁶, 藤田 信之⁶, 町田 雅之^{5,2}, 平野 隆^{5,2}
(¹トロピカルテクノセ, ²沖縄先端ゲノム, ³沖縄工技セ, ⁴沖縄科技振興セ, ⁵産総研, ⁶NITE)

【目的】沖縄県の伝統的蒸留酒「泡盛」の醸造には通常複数の黒麹菌株が用いられている。これまでの検討により、これらの黒麹菌株は醸造上異なる特性を示すと共に、最終産物である泡盛風味への影響が異なることを明らかにしてきた。また、これらの泡盛黒麹菌株について、*A. niger*などを含む系統分類も興味深い。そこで、複数の泡盛黒麹菌株について次世代シーケンサー SOLiDを用いたゲノム全体の比較解析を進めている。

【方法・結果】複数の*A. awamori* (寄託機関菌株、泡盛醸造に用いられている実用菌株) についてSOLiDでの解析を行った。得られたデータ間および既報の*A. niger*などのデータと比較解析を行うことで、*A. niger*と*A. awamori*間には比較的大きな配列上の違いがあること、各*A. awamori*間では相同性が高いものの一部顕著に異なる領域が存在することがわかった。現在、これらの領域について詳細な比較を行うことで、泡盛黒麹菌全体の特性および個々の泡盛黒麹菌株の特性についての解析を進めている。このような複数菌株間の比較ゲノム解析は、産業に用いられる株間の比較に重要であると考えられる。

Whole genome analysis of *Aspergillus awamori* using ABI SOLiD, the next-generation sequencer

○Masatoshi TSUKAHARA^{1,2}, Morimi TERUYA^{3,2}, Ikuya KIKUZATO^{4,2}, Kazuhiro FUJIMORI^{5,2}, Yumi IMADA^{1,2}, Maiko NEZUO^{1,2}, Hideaki KOIKE^{5,2}, Yuki SATO^{4,2}, Shuichi YANO^{1,2}, Yukino MIWA^{1,2}, Kouji KANNO⁶, Hiroshi HORIKAWA⁶, Norihiro KUSHIDA⁶, Nobuyuki FUJITA⁶, Masayuki MACHIDA^{5,2}, Takashi HIRANO^{5,2}
(¹TTC, ²OCGR, ³OITC, ⁴OSTC, ⁵AIST, ⁶NITE)

Key words *Aspergillus awamori*, genome, sequencer

1Gp22 推定酸性カルボキシペプチダーゼ (ACP) 遺伝子破壊株の醸造特性

○山下 伸雄¹, 金子 奈都子¹, 中田 春香¹, 松永 将義¹, 坂本 和俊², 岩下 和裕², 山田 修²
(¹白鶴酒造・研究開発, ²酒総研)

麹菌ESTライブラリー (SR: 米麹) において、酸性カルボキシペプチダーゼ (ACP) 様配列を検索した結果、最も出現頻度の高かったAoEST02195に着目し、該当するゲノム配列 (DOGAN ID AO090012000706) を特異的に破壊した麹菌株を得た。破壊が確認された3株および対照株を用いて製麹試験を行った結果、破壊株ではACP力価とともに菌体量の明瞭な減少が認められたが、アミラーゼ系力価は低減しておらず、清酒小仕込試験における酵母の発酵は正常であった。破壊株を用いた上槽酒のアミノ酸度は対照株より低く、アミノ酸組成を調べた結果、親水性アミノ酸に比べ疎水性アミノ酸の減少が大きい傾向が認められた。このことから該遺伝子がコードする酵素は醪中の反応において緩やかではあるが基質ペプチドのカルボキシル末端のアミノ酸によって差異があることが示唆された。

Brewing characteristics of *Aspergillus oryzae* putative acid carboxypeptidase gene disruptants

○Nobuo YAMASHITA¹, Natsuko KANEKO¹, Haruka NAKATA¹, Masayoshi MATSUNAGA¹, Kazutoshi SAKAMOTO², Kazuhiro IWASHITA², Osamu YAMADA²
(¹Hakutsuru sake brewing Co., Ltd., ²Natl. Res. Inst. Brewing)

Key words acid carboxypeptidase, *Aspergillus oryzae*, sake brewing, amino acid

1Gp21 ギガシーケンスによる実用麹菌株のゲノム解析

○野村 孝典¹, 小田 健太¹, 濱田 涼子², 岩下 和裕^{1,2}, 山田 修², 三上 重明²
(¹広島大院・先端・生命機能, ²酒総研)

【目的】麹菌 (*Aspergillus oryzae*) は日本の伝統醸造産業に大きく関与すると共に、食品用、医療用酵素の供給源としても注目されている。このような背景をもとに、麹菌 RIB40 株の全ゲノムシーケンス解析が行われたが、実際の醸造現場ではRIB40株とは様々な特性が異なる事が経験上知られている、多様な菌株が使用されている。このような特性は、基本的にはゲノム構造の違いに由来する者と思われる。そこで本研究では、次世代シーケンサーを用いて、実際に清酒に使用されてきた経緯のある麹菌株について解析を行った。

【方法・結果】2004年に大吟醸麹から単離された麹菌RIBOIS01株からゲノムDNAを抽出し、次世代シーケンサー 454FLX (Roche社) に供した。その結果、36.9Mbpsのゲノム配列を取得した。遺伝子全体の相同性は、平均92.5%であった。また、RIBOIS01株には、RIB40株には存在しない、のべ371.6Kbpの新規配列が存在すると共に、頻繁に染色体組み換えを起こしていることが明らかとなった。現在、より詳細な解析を行うと共に、これまで清酒用麹菌株の代表とされてきた RIB128 株についても同様の解析を行っている。

The genome analysis of the *Aspergillus oryzae* used in fermentation industry on giga sequencing

○Takanori Nomura¹, Kenta Oda¹, Ryoko Hamada², Kazuhiro Iwashita^{1,2}, Osamu Yamada², Shigeaki Mikami²
(¹Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ., ²Natl. Res. Inst. Brewing)

Key words *Aspergillus oryzae*, genome, new gene, chromosome recombination

1Gp23 β-グルコシダーゼを高生産する焼酎麹菌の育種

○瀬戸口 翔, 玉置 尚徳, 伊藤 清
(鹿大院・農・生物資源)

【目的】焼酎麹菌の生産するβ-グルコシダーゼは芋焼酎の特徴香の発現のために重要な役割を果たしており、その活性が焼酎の品質に与える影響は大きい。β-グルコシダーゼの発現は誘導的であると同時にCREAを介してグルコース抑制が強力にかかるため、麹中で糖化が進行するとβ-グルコシダーゼの発現も抑制される。本研究ではグルコース抑制を解除することで、β-グルコシダーゼを高生産する焼酎麹菌を育種し、焼酎麹菌の多様化、芋焼酎独特の香り豊かな焼酎の製造を目指している。

【方法及び結果】2-Deoxy glucose (2-DG) はグルコースのアナログであり、強力にグルコース抑制を引き起こすため、焼酎麹菌は2-DGを含有し、且つセロピオースを炭素源とする培地では生育できない。この培地で生育する菌株を選択すればグルコース抑制が解除されていると思われるためβ-グルコシダーゼを高生産すると思われる。焼酎麹菌としては *Aspergillus kawachii* (NBRC4308) を使用した。この菌株にUV照射で変異を与えた後、2-DGを含有するセロピオース培地でスクリーニングを行い、グルコース抑制が解除されたと思われる変異株を得た。この変異株と野生株を用いて製麹し、酵素力価を測定した結果、変異株は野生株に比べβ-グルコシダーゼ活性のみならずα-アミラーゼ活性、糖化力においても高い力価を示した。

Breeding of shochu koji mold overproducing β-glucosidase

○Sho SETOBUCHI, Hisanori TAMAKI, Kiyoshi ITO
(Grad. Sch. Agri. Kagoshima Univ.)

Key words glucosidase, *Aspergillus kawachii*, 2-Deoxy glucose, Shochu