

麹菌の実用育種のためのゲノム編集技術開発

独立行政法人酒類総合研究所 醸造微生物研究部門 主任研究員

織 田 健

1. はじめに

麹菌 (*Aspergillus oryzae*) は、古来より日本の伝統的な醸造産業において、日本酒、焼酎、醤油、味噌をはじめとする和食文化の根幹を形成する醸造産物の製造に使用されてきた。その経緯もあり、2012年、日本醸造学会により「国菌」として認定された¹⁾。また、麹菌は非常に高いタンパク質分泌能力を持ち合わせており、異種タンパク質生産の宿主として利用され、近年では天然物の異種生産にも利用されており、医薬的な視点でも非常に有用な微生物として認識されている。

微生物として多分に漏れず、1980年代後半から麹菌の遺伝子組換え技術は開発されており、それを基盤として現在に至るまでさまざまな分子生物学的な研究が展開されてきた。麹菌が示すさまざまな有用な特性について、その形質の要因となる遺伝子が明らかとされ、育種のターゲットが蓄積されつつある。

醸造産業を支えている種麹メーカーでは、自然変異や変異剤等による変異の導入により有用な菌株を開発、または長い歴史において集積され所蔵されている数多くの菌株群から要望される特性に見合った菌を選抜し商品として販売している。また、近年では自然界から有用菌株を単離し、安全性を確認した上で商品化に至った事例が本誌でも紹介されている^{2,3)}。しかしながら、本当に目的とする特性のみを限定して付与した麹菌の実用株の育種開発がなかなか出来ていないのが実情である。

一般に微生物の育種では、UV照射や薬剤による



変異導入がおこなわれるが、麹菌は菌糸内の核が多核であるために、すべての核を同時に同じように変異導入しなければならない。また、黄麹菌は、無性胞子である分生子を形成するが、1つの分生子内には、2~4個程度の核が存在しており、継代培養により単核化させて同じ核の構成に単離することも難しい。植物やほ乳類などでは有用な形質を持つ親同士を掛け合わせる交

雑育種がおこなわれるが、麹菌では優性世代が見つかっておらず交雑ができない。さらに遺伝子組換えとしての手法を取った場合でも、麹菌は相同組換えよりも非相同末端結合の機構による修復能が高いとされており、目的の位置で組換えが非常に起こりにくい。つまり、外部から何らかのDNA断片を導入しても目的とする部位以外に挿入されてしまい、狙った位置での遺伝子ターゲティングが困難である。研究の現場では、非相同末端結合に関わる *ligD*⁴⁾ や *ku70*, *ku80*⁵⁾ 遺伝子を破壊した菌株を作成し宿主とすることにより、相同組換えを優先させ遺伝子ターゲティング効率を8割から9割程度に向上させて利用している。しかしながら、実用育種として使用する場合は、それぞれの実用株において、まず非相同末端結合に関わる遺伝子を破壊した宿主を準備する必要がある。また、産業利用の観点からは、遺伝子組換え体の使用は、法規制や消費者のパブリックアクセプタンスから広くは受け入れられておらず、別の手法による育種が必要となっている。このように麹菌では、育種を非常に困難とする形質を多数持ち合わせていた。