

■研究課題名

ゲノム情報に基づく麹菌全プロテアーゼの機能解析

■研究の目的

麹菌ゲノム解析が2005年に終了し、麹菌のゲノム中には、134種のプロテアーゼをコードすると推定される遺伝子が存在していた。本研究は、蛋白性食品から機能性ペプチドを効率よく生産するために、麹菌のゲノムにコードされる全てのプロテアーゼの性質を明らかにし、麹菌全プロテアーゼ一式の作用特性、基質特異性を明らかにしプロテアーゼカタログを作成し、選択したプロテアーゼを用いて機能性ペプチド製造試験を行うことを目的とした。

■研究項目・実施体制（◎は研究を総括する者（研究代表者））

- ① 麹菌酸性プロテアーゼ等の解析
（◎竹内道雄／東京農工大学大学院農学研究院）
- ② 麹菌金属プロテアーゼ等の解析
（山形洋平／東京農工大学大学院農学研究院）
- ③ 麹菌アミノペプチダーゼ等の解析
（楠本憲一／（独）農研機構 食品総合研究所）
- ④ 麹菌セリンプロテアーゼ等の解析と新規プロテアーゼ剤の作製試験
（天野 仁／天野エンザイム株式会社マーケティング本部）
- ⑤ プロテアーゼ高発現に関する研究及び有用ペプチド製造試験
（石田博樹／月桂冠株式会社）



竹内道雄

■研究の内容・主要な成果

- ① 麹菌のゲノム中のプロテアーゼをコードすると推定された遺伝子134種について解析し、プロテアーゼ遺伝子ではないと判断された遺伝子を除いた123種について *A. oryzae*、*A. nidulans*、*Pichia pastoris*、または *Escherichia coli* を宿主として発現し、102個遺伝子産物を取得し、プロテアーゼ活性を示した遺伝子産物75種について、基質特異性、酵素化学的性質を明らかにした。これらの結果をまとめてデータベースを構築した。
- ② 基質特異性の明らかとなったプロテアーゼを、セルフクロニングの系で発現し、食品タンパク質に作用させ血圧降下活性等生理活性を有する有用ペプチドを複数得た。

■今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ① 麹菌のゲノムにコードされるプロテアーゼの性質を網羅的に明らかにし、データベースを構築した。基質特異性が明確となった麹菌プロテアーゼを用いることにより科学的知見に裏付けられた蛋白性食品の製造が可能になった。
- ② 特異性の高い麹菌プロテアーゼを用いて、機能性ペプチドを効率良く生産することが可能になった。

■公表した主な特許・論文

- ① K. -I. Kusumoto, *et al.*: Efficient production and partial characterization of aspartyl aminopeptidase from *Aspergillus oryzae*. *Journal of Applied Microbiology* 105: 1711-1719 (2008)
- ② H. Morita, *et al.*: Heterologous expression and characterization of CplI, OcpA, and novel serine-type carboxypeptidase OcpB from *Aspergillus oryzae*. *Appl Microbiol Biotechnol* 85: 335-346 (2009)
- ③ M. Matsushita-Morita, *et al.*: Characterization of recombinant prolyl aminopeptidase from *Aspergillus oryzae*. *Journal of Applied Microbiology* 109: 156-165 (2010)

■研究成果の具体的図表

ゲノム情報に基づく麹菌全プロテアーゼの機能解析

