

**[成果情報名] ホスファターゼ欠損麹菌の育種により加熱処理不要でだし入り味噌が製造できる**

**[要 約]** イノシン酸を分解する酸性ホスファターゼの主要なアイソザイム欠損麹菌を育種するとともに、その他のアイソザイムの生産を抑制する製麹工程により、高温加熱せずにだし入り味噌の製造が可能となる。だし入り味噌の高品質化、低コスト化につながる。

**[キーワード]** 麹菌、だし入り味噌、イノシン酸分解、酸性ホスファターゼ

**[担 当]** 加工流通プロセス・食品生物機能利用

**[代表連絡先]** 電話 029-838-7991

**[研 究 所]** 食品総合研究所・応用微生物研究領域

**[分 類]** 研究成果情報

---

**[背景・ねらい]**

消費者の嗜好と利便志向に合わせて、核酸系調味料（イノシン酸等を含有）を添加した調味味噌が製造されている。核酸系調味料の旨味成分の分解防止のため、現状では 80℃15 分間以上の高温加熱処理による、味噌中の麹菌酸性ホスファターゼの失活が不可欠である。一方で、加熱臭による風味低下が問題となっている。そこで麹菌 (*Aspergillus oryzae*) のホスファターゼ生産機構を解明し、ホスファターゼ低生産麹菌の作出・使用により高温加熱処理工程を回避することにより、高品質な調理味噌が製造可能であり、且つ低コスト省エネルギー型の新規な製造技術の開発を目指した。

**[成果の内容・特徴]**

1. 麹菌ゲノム解析株 (*A. oryzae* RIB40) のゲノム情報中には、リン酸存在下で発現が抑制される酸性ホスファターゼ様遺伝子と相同的な遺伝子 13 種類 (*aphA-M* と命名) が見出される。
2. 味噌用低ホスファターゼ実用株 KBN8048 のホスファターゼ様遺伝子 *aphA-M* をリアルタイム PCR 装置を用いて発現量を定量化すると、米麹で発現量の高い 8 遺伝子と豆麹で高い 5 遺伝子に分類される。
3. 前者は米麹へのリン酸添加量に依存して遺伝子発現が抑制される。一方、後者の中で最も遺伝子発現量が多く、麹菌の主要なイノシン酸分解酵素の遺伝子 *aphC* は、米麹へのリン酸添加によりその遺伝子発現量が増大する。(図 1、表 1)。
4. KBN8048 及びその *aphC* 遺伝子欠損セルフクロニング株を用いた米麹培養を行い、それらへのリン酸添加を行うと、特に *aphC* 遺伝子欠損株で濃度に応じて酸性ホスファターゼ活性及びイノシン酸分解活性が低下する(図 2)。
5. *aphC* 遺伝子が欠失した麹菌株を育種すれば、製麹助剤であるリン酸塩を添加して製麹を行い、醸造した味噌は、イノシン酸分解活性が低く、高温加熱せずにだし添加できると期待される。

**[成果の活用面・留意点]**

1. *aphC* 変異株は、培地へのリン酸添加で酸性ホスファターゼ活性が親株よりも低下する変異株の中から選択可能である。
2. 味噌用実用株として味噌メーカーに提供するためには、保存菌株の調査や変異処理により低ホスファターゼ株を育種選択していくことが必要であり、さらに味噌メーカーでの実証試験が必要である。
3. 今後、種麹メーカー等で本提案の育種法の実証が必要となる。

[具体的データ]

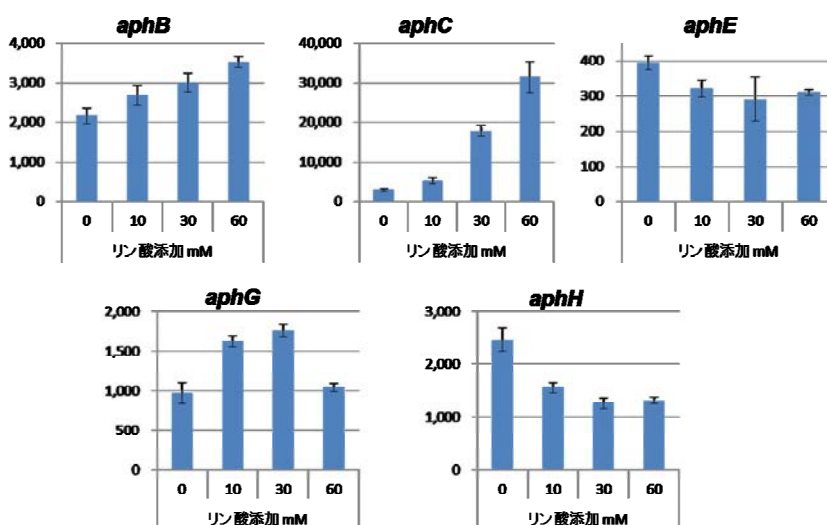


図1 KBN8048 株における酸性ホスファターゼ遺伝子のリン酸添加による遺伝子発現への影響  
リアルタイム PCR 装置により遺伝子発現量を定量的に測定した。ここでは一部の遺伝子について示した。横軸はリン酸添加量で、 $\alpha$  化米に添加したリン酸水溶液の濃度、縦軸は PCR 液中に存在する鋳型 cDNA のコピー数を示す。

表 1. 麹菌酸性ホスファターゼ遺伝子のリン酸添加による発現変化

発現量減少	aphA	aphD	aphF	aphI
	aphJ	aphK	aphL	aphM
発現量増大	aphB	aphC	※ aphE	
	aphG	aphH		

※最も増大量が大きい

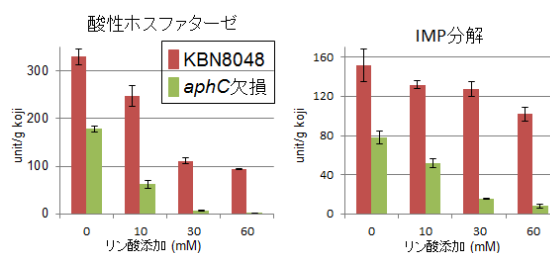


図2 KBN8048 及びその *aphC* 遺伝子欠損セルフクローニング株を用いた米麹培養のリン酸添加による酵素活性への影響  
酸性ホスファターゼ活性及びイノシン酸分解活性を示した。リン酸添加量は、 $\alpha$  化米に添加したリン酸水溶液の濃度

(楠本憲一、服部領太、鈴木聡)

[その他]

中 課題名：新需要創出のための生物機能の解明とその利用技術の開発

中課題番号：330d0

予算区分：交付金、新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業

研究期間：2009～2011 年度

研究担当者：楠本憲一、丸井淳一郎（現 JIRCAS）、多田功生、門馬真里、服部領太、鈴木聡、和久豊（ビオック）、杉本達哉（ナカモ）、北本則行（あいち食品工業技術センター）

発表論文等：1) Marui J. *et al.* (2012) *Food Sci. Technol. Res.* 18 (1): 83-90

2) Yoshino-Yaduda S. *et al.* (2012) *Food Sci. Technol. Res.* 18 (1): 59-65

3) Marui J. *et al.* (2013) *Int. J. Food Microbiol.* 166(2): 238-243

4) Yoshino-Yaduda S. *et al.* (2014) *Food Sci. Technol. Res.* in press