

Aspergillus oryzae のリパーゼ及びプロテアーゼ産生に及ぼす糖質の影響

応用生物科学専攻 食資源科学講座 応用食品科学 細野 誠

1. 緒論

古くから日本の伝統食品に利用されてきた *Aspergillus oryzae* は、そのゲノム解析により 130 種以上ものプロテアーゼ遺伝子を有していることが明らかとなっている。この特性を活かして *A. oryzae* をチーズの風味強化剤として応用するために、*A. oryzae* の培養産物をゴーダタイプチーズの製法に倣って調製したカードと混合し、熟成させた。その結果、過剰な揮発性遊離脂肪酸が蓄積し、ランシッドが著しいものが得られたことから、*A. oryzae* をチーズに応用するためには、先ずこのランシッドを引き起こす原因となるリパーゼの産生を抑制する必要があるものと思われた。*A. oryzae* RIB 40 株のゲノム解析によれば、トリグリセリドリパーゼ遺伝子 *tg1A* の上流部分に転写調節因子 CreA が結合するモチーフ (5' -SYGGRG-3') が存在する。培地中にグルコースが存在すると CreA がこの領域に結合し、下流に存在するアミラーゼ遺伝子の転写を抑制することが明らかとなっている。そこで本研究では、グルコース添加によって *A. oryzae* のリパーゼ産生の制御が可能であるかどうか調べると同時に、プロテアーゼ産生にどのような影響を及ぼすのかについても検討した。

2. 方法

A. oryzae RIB 40 株及び AHU 7139 株を、pH 5.5 に調整した固形培地 (ホエイタンパク質 19.5%, ラクトース 2.3%, 脂質 0.7%, 水分 76.6%) を基本培地として 20°C で 7 日間培養した (コントロール)。必要に応じてラクトース、グルコース (2.5, 5%) または終濃度 4% リン酸二水素ナトリウムを加えた。培養物から得られた粗酵素液をリパーゼ活性及びプロテアーゼ活性の測定に供した。

3. 結果と考察

グルコースを添加すると、両菌株共にコントロールに比べて培養終了時の pH が酸性域に留まり、その値は添加した糖の濃度に依存して低くなっていた。何れの条件においても産生されたリパーゼは中性域で最も高い活性を示した。基本培地にグルコースを 5% 添加した場合は、RIB 40 株の培養物中のリパーゼ活性はコントロールと比較して著しい低下が認められなかったが、AHU 7139 株のそれにおいてはほとんどリパーゼ活性が認められなくなった。基本培地にラクトースを追加すると、何れの菌株においても培養終了時の pH はグルコースを添加した場合に比べて高く、ラクトース 5% 添加においても培養物中のリパーゼ活性は顕著に抑制されなかった。培地に緩衝能のあるリン酸二水素ナトリウムを添加した場合、培養終了時の pH は無添加では 7.2~7.7 であったのに対し、添加した場合は 6.2~6.5 となり、リパーゼ産生が抑制されていた。

一方、グルコースを添加することで両菌株が産生するプロテアーゼのプロフィールに変化が生じた。すなわち RIB 40 株ではコントロールでプロテアーゼ活性が認められなかったが、グルコース添加によって広い pH 範囲で活性が認められるようになった。AHU 7139 株ではコントロールではアルカリ性で高い活性を示したが、グルコース添加によって酸性でも高い活性を示すようになった。

4. まとめ

グルコースを培地に添加すると *A. oryzae* のリパーゼ産生を抑制できると共に、培養終了時 pH が酸性側に留められ酸性プロテアーゼが誘導された。また、グルコース無添加でも培養時の pH を酸性側に留めておくことでリパーゼ産生を抑制できることも明らかとなった。