

きのこがつくる細胞外リグニン分解系

三木 佑太

リグニンは、次世代資源として近年注目を集めているリグノセルロースバイオマスの主成分の一つであり、反応性の低い非フェノール性芳香環骨格が三次元網目状に連なった難分解性芳香族高分子である¹⁾。植物体では、リグニンがセルロース繊維を被覆することで頑健性や傷病耐性がもたらされ、また道管における水輸送を可能にしている。一方、リグノセルロースバイオマス資源利用において、リグニンの難分解性は大きな障害である。既存の紙パルプ産業などでは蒸解と呼ばれる高温高压下での酸やアルカリ処理による脱リグニン法が確立されているが、エネルギー消費量が高いため、バイオエタノールの原料（セルロース）獲得への転用は本末転倒である。常温常圧下で作用するバイオテクノロジーによるリグニン分解法の構築が理想的だ。

自然界におけるリグニンの生物分解を大まかに区切ると、1) 難分解性高次構造の開裂・断片化、2) 各分解フラグメントに対応した種々の酸化還元酵素や転移酵素によるカテコールやプロトカテク酸誘導体への収束代謝、3) ジオキシゲナーゼなどによる芳香環開裂・中央代謝系への取込み、の3段階からなる。なかでも、初発の高次構造の開裂・断片化はリグニンの頑健性を突破し、生物分解のきっかけを与える鍵反応だ¹⁾。この初発のリグニン断片化を担うのが、白色腐朽菌と呼ばれるきのこ（担子菌）である。白色腐朽菌は栄養枯渇条件下にて、リグニン分解酵素と呼ばれる酸化酵素群を分泌し、リグニンを酸化的に低分子化する。リグニン分解酵素として、リグニネルオキシダーゼ (LiP)、マンガニルオキシダーゼ、パーサチルベルオキシダーゼ (VP) の3種のヘムベルオキシダーゼと、銅含有酵素ラッカーゼが見いだされている。なかでもLiPとVPは高い酸化力と広い基質特異性を併せ持ち、リグニンや種々の非フェノール性芳香族物質を直接酸化する鍵酵素だ。ちなみに、白色腐朽菌によるダイオキシンなど難分解性汚染物質のバイオレメディエーションにおいても、LiPが初発の酸化的な分解反応を担う例が多い²⁾。

LiPの詳細な触媒メカニズムについては、モデル白色腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium* 由来分子種について精力的に研究されてきた。LiPの全体的な構造や触媒サイクルは他担子菌ベルオキシダーゼやホースラディッシュベルオキシダーゼに代表される植物ベルオキシダーゼと類似している。しかしながらLiPは、酸化型中間体においてタンパク質表面のTrp残基（触媒性Trp残基）から活性中心ヘムへの分子内電子移動によりTrpラジカルを発生し、基質を酸化するユニークな反応機構を有す

る³⁾。この触媒性Trp残基での酸化機構により、活性中心にアクセスできないリグニンなどの高分子基質や、種々の置換基を持つ芳香族化合物に対する広い基質特異性がもたらされる。この触媒性Trp残基はこれまで見いだされたほとんどすべてのLiP分子に保存されていることから、LiP型触媒機能に必須の構造的特徴だと定義づけられている。しかしながら近年、触媒性Trp残基とは立体的に異なる位置にあるTyr残基で基質酸化を行うLiPが見いだされた⁴⁾。現在進められている大規模な白色腐朽菌ゲノムプロジェクトにより、今後もさらに新規なリグニン分解酵素の発見が期待される。

白色腐朽菌のリグニン分解にはリグニン分解酵素以外の分泌酵素や低分子化合物も間接的に関与している¹⁾。白色腐朽菌はリグニン分解時にグリオキシル酸オキシダーゼやアリアルアルコールオキシダーゼと、それらの基質であるシュウ酸やベンジルアルコール誘導体を分泌し、両オキシダーゼ反応で生成する過酸化水素をベルオキシダーゼ反応に供給する。ベンジルアルコールはLiPの基質としても作用し、自身が酸化されることで不安定な酸化型中間体の蓄積を回避する。アリアルアルコールオキシダーゼやLiPにより酸化されたベンズアルデヒドは、アリアルアルコールデヒドロゲナーゼにより再びベンジルアルコールへと還元される¹⁾。また、LiPの生理学的基質であるペラトリルアルコール (3,4-dimethoxybenzyl alcohol) は、LiP反応中に生じるラジカルの安定化、ラジカルメディエーターとしての機能、さらには過剰な過酸化水素との反応にて不活性化したLiPの保護（再活性化）といったユニークな役割も担う^{5,6)}。

このように白色腐朽菌は、リグニン分解に特化した酵素と、その働きを補助する酵素や低分子化合物を含めたリグニン分解系を進化させてきた。リグノセルロース資源利用への白色腐朽菌リグニン分解能の応用においても、直接的に働くリグニン分解酵素の最適化に加え、間接的に作用する酵素や低分子化合物の生合成も含めたりグニン分解系全体の応用・最適化についても研究を進めていくことが必要かもしれない。

- 1) Ruiz-Duenas, F. J. *et al.*: *Microb. Biotechnol.*, **2**, 164 (2009).
- 2) Joshi, D. K. *et al.*: *Biochemistry*, **33**, 10969 (1994).
- 3) Ruiz-Duenas, F. J. *et al.*: *J. Exp. Bot.*, **60**, 441 (2009).
- 4) Miki, Y. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **286**, 15525 (2011).
- 5) Khindaria, A. *et al.*: *Biochemistry*, **35**, 6418 (1996).
- 6) Wariishi, H. and Gold, M. H.: *J. Biol. Chem.*, **265**, 2070 (1990).