

糸状菌のセクレトームに隠された宝を探せ！

鈴木 裕満・志水 元亨*

糸状菌は、カビやキノコとして身近に存在する微生物であり、さまざまな産業に用いられている。日本酒の製造では、コメに含まれるデンプンの糖化に麹菌 *Aspergillus oryzae* が利用されている。また、*Trichoderma reesei* などは植物バイオマスの分解・変換に利用されており、国連の掲げるSDGs（持続可能な開発目標）達成への貢献が期待される。

糸状菌は多糖分解酵素を細胞外に分泌することで、多糖をオリゴ糖や単糖に低分子化した後、細胞内に取り込み代謝している。自然界では、糸状菌は主として植物に含まれる多糖を分解し、それらを栄養にしている。植物の細胞壁は、主にセルロースやヘミセルロース、ペクチンなどの多糖で構成されている。これら多糖を構成する単糖の種類や構成糖の単位間の結合様式はさまざまであり、構造も直鎖状のものから分枝側鎖を有するものまで存在しているため、多糖の構造は複雑である。そのため、多糖の分解には多様な酵素が関与している。たとえば、ペクチンを構成する多糖は、ガラクトuron酸が α -1,4-結合により連なったホモガラクトuronンや、ラムノースとガラクトuron酸が交互に α -1,4-, α -1,2-結合により連なったラムノガラクトuronンを主鎖とし、ガラクトンやアラビナンが側鎖として分岐している。そのため、ペクチンの分解には糖質加水分解酵素や多糖脱離酵素（リアーゼ）、エステラーゼなど少なくとも18種類の酵素が関与している¹⁾。未だに構造が不明な多糖も存在することから、それらを分解する未知の酵素も存在していると考えられる。

近年、質量分析技術の発展とさまざまな糸状菌のゲノム情報が解読されたことから、糸状菌のセクレトーム解析が行われている。セクレトーム解析とは、細胞外に分泌されたタンパク質を、質量分析計などを用いて網羅的に同定する手法である。セクレトーム解析より、これまでに機能が明らかとなっているタンパク質が見いだされる一方、既知のタンパク質とアミノ酸配列がまったく相同性を示さない機能未知なタンパク質が多数同定されている。Nekiunaiteらは、穀物由来のデンプンを唯一の炭素源として糸状菌 *Aspergillus nidulans* を培養し、セクレトーム解析を行った結果、穀物の種類や培養日数によって検出されたタンパク質は異なっていたが、最大で221種を同定した²⁾。同定されたタンパク質は主に糖質分解関連酵素やプロテアーゼであったが、およそ20%は機

能未知タンパク質であった。また、Wymelenbergらは広葉樹アスペンの木粉を唯一の炭素源として、木材腐朽担子菌 *Phanerochaete chrysosporium* を培養し、セクレトーム解析を行った³⁾。その結果、77種類のタンパク質が検出され、そのうち約20%の15種類が機能未知タンパク質であると報告した。これらのことは、これまで知られていない機能や構造を持つタンパク質がまだまだ多数存在することを意味している。

糸状菌のセクレトーム解析により検出された機能未知タンパク質の中には、その後の解析で機能が明らかにされたものも存在する。たとえばShimizuらは、*A. nidulans* が β -マンナン応答的に多量に分泌する機能未知タンパク質が、新規マンナン分解酵素 (β -1,4-マンナーゼ; Man134A) であることを明らかにした。この発見により糖質加水分解酵素などが分類されているデータベース CAZy database (<http://www.cazy.org>) に新たなファミリー Glycoside Hydrolase family 134 (GH134) が加えられた⁴⁾。Man134Aは、分子量が約18 kDaと小さく、高い熱安定性を持つなど既知のマンナン分解酵素と異なる特徴を有している⁵⁾。また、*man134A* 遺伝子破壊株を β -マンナンのみを炭素源にした培地で生育させると、野生株と比べて生育が悪いことから、Man134Aは *A. nidulans* による β -マンナンの分解と資化に重要な酵素であることが明らかになった⁴⁾。

近年、糸状菌由来の新規酵素が次々と発見されている。つい最近も、糸状菌 *Talaromyces funiculosus* から真核生物として初めて β -1,2-グルカナーゼ (*TfSGL*) が発見され、CAZyに新たにGH162が加えられた⁶⁾。あなたもセクレトーム解析から、未知酵素という宝を探してみてもどうだろう。そこには我々が想像もしていないような未知の機能を持つタンパク質がいくつも隠れているに違いない。

- 1) Rytioja, J. et al.: *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **78**, 614 (2014).
- 2) Nekiunaite, L. et al.: *Biotechnol. Biofuels*, **9**, 187 (2016).
- 3) Wymelenberg, A. V. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **76**, 3599 (2010).
- 4) Shimizu, M. et al.: *J. Biol. Chem.*, **290**, 27914 (2015).
- 5) Sakai, K. et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **101**, 3237 (2017).
- 6) Tanaka, N. et al.: *J. Biol. Chem.*, **294**, 7942 (2019).