

## 糸状菌の菌糸生長

竹下 典男

### はじめに

菌類は一般に、キノコやカビのように菌糸や子実体（胞子形成のために作る複合的な構造）を形成する生活環を持つ糸状菌と、単細胞性の生活環を持つ酵母からなる真核生物の総称である。菌類は動物界、植物界に並ぶ菌界を構成するほどの多様性を持つ巨大な生物群で、200–500万種も存在すると試算される。菌類にはさまざまな分類群が含まれ、非常に大きな形態的・生物学的多様性を示す。キノコは目に見える大きさであるため微生物には含まれにくいですが、菌糸によって構成され、その基底部（地中部）は菌糸のネットワーク構造（菌糸体）である。酵母は、それぞれの環境に適応するため、菌糸形成能を失った（あるいは抑えた）真核微生物であることが最近のゲノム比較解析で明らかにされている<sup>1)</sup>。つまり、菌類の実体のほとんどが菌糸により構成されると言える。

### 菌糸生長の役割

菌糸体（図1）からなる糸状菌はさまざまな環境に適応し、それを利用した独特な生活環を有している。腐生菌や病原菌、寄生菌、共生菌などが含まれ、生物由来の有機性資源だけでなく、幅広い生物（動物・植物・虫・細菌など）、鉱物などの非生物といった、ありとあらゆる

環境に適応している。外部の有機物を利用する従属栄養生物であり、分解酵素を分泌して細胞外で養分を消化し、細胞表面から摂取する。菌糸体であることは体積あたりの表面積を増大させ、栄養吸収に適している。菌糸の伸長と分岐からなる多細胞性の菌糸体は、糸状菌の大きな特徴で、その栄養吸収や共生（病原性を含む）に関わる。糸状菌は多くの分解酵素を分泌し有機物を分解する。その分解者としての役割は生態系の物質循環を制御している。特に土壌中の生物の中で、糸状菌は体積の割合が最大であると考えられている。

糸状菌の中には、コウジカビのように伝統的な発酵食品（酒・醤油・味噌など）の生産に関わるものがある。近年では、さまざまな有機酸や脂肪酸などの生産に利用され、得られたクエン酸、イタコン酸などは飲料食品や化学合成繊維・樹脂といったバイオ産業で利用されている。食品・飼料・洗剤工場などでは、糸状菌に作らせたさまざまな酵素（糖質分解酵素、プロテアーゼ、リパーゼなど）を利用している。植物系バイオマスを分解することでバイオエタノールの生産に関わるものもある。このように糸状菌を利用した製品は、年間3000億円市場と言われており<sup>2)</sup>、私たちは知らないうちにその恩恵を受けている。

一方で、免疫不全のヒトに侵入し病原性を示すなどの真菌症は治療が困難で医学分野で大きな問題となっている。真菌（糸状菌、酵母）も人間と同じ真核生物であるため、副作用の低い治療薬が少ないのが現状である。また、植物病原菌の約80%が糸状菌であり、農作物の10%が毎年失われていると言われている。一方で、植物の根に接触し共生する菌（内生菌、菌根菌）は、土壌からリンや窒素源を植物に供給し、代わりに植物が光合成で生産した炭素のエネルギー源や脂肪酸などを得ることで生育する。植物の大部分が糸状菌と共生することが明らかになっているが、これは糸状菌が植物の陸上への進出に貢献した結果である可能性が考えられている。菌糸体は、陸上への進出に有利であることが予想され、陸上植物が出現する以前の4億年前には、プロトタキシテス（直径1 m、高さ8 m）といった大型菌類の化石が示すように、菌類が繁栄していたようである。

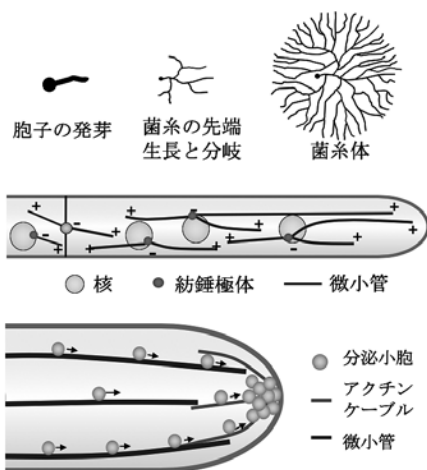


図1. 菌糸体（上）、菌糸内の核と微小管（中段）、菌糸先端生長における分泌小胞の輸送とアクチン・微小管（下）。

著者紹介 筑波大学 生命環境系 微生物サステナビリティ研究センター（MiCS）（准教授）、  
ERATO野村集団微生物プロジェクト ゲノム生化学グループリーダー E-mail: takeshita.norio.gf@u.tsukuba.ac.jp  
<https://fungalcell.com>

生物工程 第98巻 第4号（2020）

環境中ですべての生物が他者と関わりあい生きているように、糸状菌も他の細菌、糸状菌、虫、植物、動物と関わりあい、時に助け合い、時に争いながら、相利・片利・片害共生と寄生を柔軟に選択して生きている。そこでコミュニケーションの手段となる化合物として、ペニシリンのような抗生物質や、医薬品のもととなる生理活性物質(免疫抑制剤、抗がん剤、コレステロール低下剤)を生産する。冬虫夏草などの漢方として古くから利用されるものもある。

### 菌糸生長の分子機構

このような糸状菌の有用性と病原性は、菌糸先端を伸ばす生長様式と密接に関連する。そのため、糸状菌の菌糸生長の仕組みを理解し制御することは、医薬農薬開発上、また、産業上への応用にもつながることが期待される。

菌糸は細胞壁により覆われ、その先端を伸ばす先端生長により生長する。糸状菌の先端生長は、長年にわたり、さまざまな手法で研究されてきた。ここ20年の顕微鏡技術の進歩は、この研究分野において大きな成果をもたらしている。ここでは、モデル糸状菌 *Aspergillus nidulans* の知見を中心に概説する<sup>3)</sup>。

先端生長(細胞壁の再構成や細胞膜の伸長)に必要なタンパク質や膜脂質は、菌糸先端への分泌小胞の輸送とエキソサイトーシスにより、菌糸先端の形質膜に供給される(図1)。膜輸送には、微小管とアクチン細胞骨格、それらに対応したモータータンパク質が、中心的な役割を担っている<sup>4)</sup>。微小管は核膜上の紡錘極体から細胞内に幅広く分布したダイナミックな繊維状の構造で、菌糸後方から先端への長距離の膜輸送経路として機能する。一方で、アクチンが重合化した繊維からなるアクチンケーブルは菌糸先端の形質膜から合成され、菌糸先端付近での小胞輸送とエキソサイトーシスに関わる。糸状菌が分泌する酵素は、一般的に、ER、Golgi体を経て分泌小胞の中または膜上に存在する形で菌糸先端まで輸送される。菌糸先端付近に分泌小胞は蓄積し、エキソサイトーシスが起きる。エキソサイトーシスは、分泌小胞と形質膜との膜融合のことであり、この菌糸先端での膜融合により分泌小胞内の分泌酵素が細胞外に分泌される(図2)。この膜融合により形質膜の膜が供給され伸長するため、菌糸生長と酵素分泌は同じ現象を違う側面から捉えたものと言える。エキソサイトーシスが起きる部位は、アクチンケーブルが形成される形質膜側の部位であり<sup>5)</sup>、幅約2 μmの菌糸先端の中でも120 nm程度の限られた領域で起きることが示された<sup>6)</sup>。ここでは超解像顕

微鏡技術を利用しており、詳細は本誌98巻7号のERATOテクノロジー特集で概説する。この部位は菌糸先端部の頂点付近にあり、菌糸の伸長方向を制御している<sup>7,8)</sup>。

### 菌糸生長のダイナミクス

糸状菌の高い酵素分泌能は、菌糸先端での活発なエキソサイトーシスに依存する。菌糸先端の形質膜に新たな膜が大量に供給されることで、菌糸が伸長する。菌糸が伸長を続けるには、細胞壁の再構築(合成と分解)とエキソサイトーシスが継続的に行われ、常に変化しながらも細胞の形態を維持する必要がある。この相反するダイナミックな変化を両立するための制御機構が発見された(図2)<sup>9)</sup>。伸長する菌糸先端でアクチンの重合化を、蛍光バイオマーカーを用いたライブイメージングにより計測すると、約20–30秒の重合化・脱重合化の周期性が見られた。分泌小胞の蛍光イメージングにより、エキソサイトーシスにおいても同様の周期性が見られ、同時に測定することで両者が同調した周期を示すことが明らかとなった。アクチンの脱重合化と膜融合(膜と膜との融合、小胞膜と形質膜の融合がエキソサイトーシスである)に細胞内カルシウムが関与することが知られている。菌糸内のCa<sup>2+</sup>濃度変化を、蛍光バイオマーカーを用いたライブイメージングにより計測することに成功した。20–30秒の間隔で菌糸先端からCa<sup>2+</sup>マーカーのシグナルが急上昇し、すぐに菌糸全体に拡散し消失した。このようなCa<sup>2+</sup>のパルスは、形質膜に局在するCa<sup>2+</sup>チャンネル依存적であり、細胞外のCa<sup>2+</sup>をキレート剤で処理すると見られなくなることから、細胞外からの一時的な流入により起きることが示された。Ca<sup>2+</sup>のパルスとアクチン重合化または分泌小胞のシグナル強度の増減が同

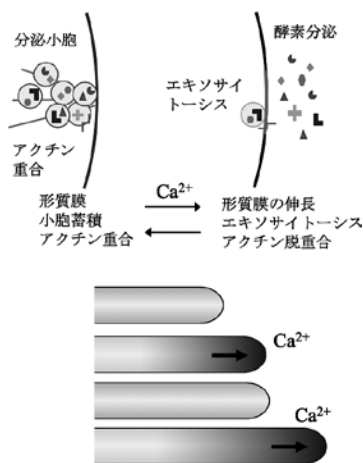


図2. Ca<sup>2+</sup>の流入により同期されるエキソサイトーシスとアクチン脱重合(上)、Ca<sup>2+</sup>の流入による段階的な菌糸生長(下)。

調しており、 $\text{Ca}^{2+}$ チャンネルの変異株ではこれらのシグナルの増減が見られないことから、 $\text{Ca}^{2+}$ の周期的な流入が、アクチン脱重合化とエキソサイトーシスを同調的に引き起こすことで菌糸生長のタイミングが制御されていることが判明した<sup>9)</sup>。 $\text{Ca}^{2+}$ の流入を引き起こす $\text{Ca}^{2+}$ チャンネルの活性化の制御については、細胞内の膨圧(内側から細胞壁を押す力)を予想している。出芽酵母においてこの $\text{Ca}^{2+}$ チャンネルのオーソログの活性が膜の張力により制御されると報告されている<sup>10)</sup>。つまり、菌糸が一旦伸長し、その後の小休止の間、アクチンが重合化し分泌小胞が蓄積し、そして細胞内の膨圧が徐々に上昇する。膨圧がある閾値を超えて $\text{Ca}^{2+}$ チャンネルを活性化することで、再び $\text{Ca}^{2+}$ が流入し、アクチン脱重合化とエキソサイトーシスを促し、菌糸がある程度伸長する。このサイクルを繰り返すことで、恒常的に菌糸生長がおこなわれるモデルを提唱している。

実際に菌糸の伸長速度は一定ではなく、少し伸びて止まり、また少し伸びて止まるといった段階的な伸長を繰り返していることが、超解像イメージングにより判明している<sup>11)</sup>。

### おわりに

このような $\text{Ca}^{2+}$ 、アクチン重合化、エキソサイトーシスのoscillation(振幅)を介したstepwise(段階的な)な細胞生長は、植物・動物細胞にも見られる現象であり、普遍的な機構であると思われる。「動」と「静」を繰り返すこの現象を考えると、「動」だけの方が早く生長できるように思われるが、ダイナミクスが増大した際には、「静」を入れることで結果的に恒常性を維持しやすくなるのかもしれない(図3)。例えるなら、渋谷スクランブル交差点の信号のように。

菌糸生長における生物学的意義として、環境シグナルに素早く応答し、菌糸生長の速度や方向を制御することで、糸状菌にとってより良い環境を選択し生長するという利点が考えられる。 $\text{Ca}^{2+}$ の流入、アクチン重合化、エキソサイトーシス、膨圧はすべてが相互依存的であり、どれかが欠けても正常な菌糸生長は起こらなくなる。また、 $\text{Ca}^{2+}$ の流入により、calmodulin, calmodulin dependent kinaseなどが活性化し、さまざまなシグナル経路を制御することが予想される。つまり、正常な菌糸

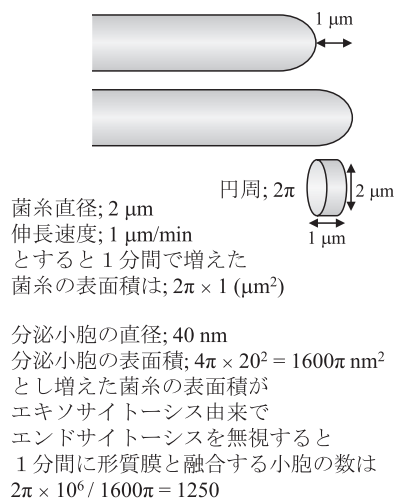


図3. 菌糸生長のダイナミクスを想像するためのモデル  
20~30秒に一度のエキソサイトーシスで  
形質膜と融合する分泌小胞の数は400~600  
(エンドサイトーシスを考慮するとそれ以上)

これだけ多くの小胞が菌糸先端の100~200 nm  
の限られた領域で短時間に融合し、溶菌する  
ことなく先端生長が行われる(と予想される)

図3. 菌糸生長のダイナミクスを想像するためのモデル

生長だけでなく、環境からのストレス応答における菌糸生長の制御にも関与することが予想される。今後、ストレス応答や屈性との関連に注目したい。

### 文 献

- 1) Kiss, E. *et al.*: *Nat. commun.*, **10**, 4080 (2019).
- 2) Meyer, V. *et al.*: *Fungal. Biol. Biotechnol.*, **3**, 6 (2016).
- 3) Takeshita, N.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **80**, 1693 (2016).
- 4) Takeshita, N. *et al.*: *Curr. Opin. Microbiol.*, **20**, 34 (2014).
- 5) Bergs, A. *et al.*: *Front Microbiol.*, **7**, 682 (2016).
- 6) Ishitsuka, Y. *et al.*: *Sci. Adv.*, **1**, e1500947 (2015).
- 7) Fischer, R. *et al.*: *Mol. Microbiol.*, **68**, 813 (2008).
- 8) Takeshita, N. *et al.*: *Mol. Biol. Cell*, **19**, 339 (2008).
- 9) Takeshita, N. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 5701 (2017).
- 10) Kanzaki, M. *et al.*: *Science*, **285**, 882 (1999).
- 11) Zhou, L. *et al.*: *Sci. Adv.*, **4**, e1701798 (2018).