

糸状菌の産生する界面活性タンパク質による 固体基質の分解促進機構とその応用

阿部敬悦 (東北大院農・生物産業創成)

はじめに

我々は、糸状菌（カビ）の一種で醸造・発酵に用いられる麹菌 *Aspergillus oryzae* の固体表面への生育能と、全国に存在する大規模な麹菌培養設備（100 万トン麹/年）に着目し、麹菌による生分解性プラスチックの高速・高効率分解と、原料モノマーの回収が可能なりサイクル技術の開発を目指している。本講演では、研究開発過程で見出した、糸状菌独自の界面活性蛋白質による固液界面でのポリエステル酵素分解反応促進機構を紹介する。

1. 何故、麹菌を利用するのか？

糸状菌は天然に百万種以上存在し、優れた固体高分子分解能により陸圏の物質循環に重要な役割を果たしている。糸状菌には動植物感染菌や、醸造・発酵に用いられる産業菌が存在する。日本の醸造産業菌である麹菌は穀類を基質として培養され、固形物の分解に適している。その形質は祖先の植物感染菌に由来すると考えられている。糸状菌は植物感染において、まず植物表面に存在するワックスエステル層を分解した後に下層組織に侵襲する。植物ワックスは固形ポリエステルである。我々は、植物感染糸状菌のワックスエステル分解に着想を得て、麹菌による生分解性プラスチック分解の研究に着手した。我々は麹菌のゲノム解析に参画し、DNA マイクロアレイをはじめとするゲノム情報基盤を利用して各種バイオプロセスの開発を行っており (1-3)、その一環としてプラスチック分解酵素や分解促進因子の探索を行った。日本の麹菌産業は世界で最も大規模且つ高効率な生体高分子分解システムとして発展してきたことから、産業規模の生分解性プラスチック分解システムの構築に適していると考えられる。

2. 麹菌の新奇界面活性蛋白質によるプラスチック表面への分解酵素の濃縮

これ迄の生分解性プラスチックの分解研究は分解酵素に関する研究が中心であり、分解を促進する他のタンパク質性因子に関する知見は殆ど知られていなかった。我々は自作した麹菌 DNA マイクロアレイ (2) を利用して、生分解性プラスチックのポリブチレンコハク酸コアジペート (PBSA) を炭素源とした際に誘導されるプラスチック分解酵素 (2,5) 及び、酵素とは別の蛋白質性プラスチック分解促進因子の探索を行った (6,7)。その結果、麹菌が PBSA 固体表面に生育する際に特異に複数の界面活性蛋白質群 (ハイドロフォビン RolA[6] 及び新規タンパク質 HsbA[7]) を産生することを見出した。さらにそれら界面活性蛋白質が菌体より分泌され、疎水固体表面に吸着して構造が変化した後に PBSA 分解酵素クチナーゼ CutL1(4) を特異的にリクルートし、プラスチック固体表面に分解酵素を濃縮することでプラスチック分解を促進するという、全く新奇の分解促進機構を世界で初めて見出した (6,7)。面白いことに、水溶性状態の界面活性蛋白質は CutL1 とは相互作用しない。また、蛋白質

間相互作用解析から、プラスチック吸着型界面活性蛋白質と CutL1 との親和性は抗原-抗体反応並の強さであった (6)。さらに界面活性蛋白質 RolA および酵素 CutL1 の相互作用に関与するアミノ酸残基を探索した結果、RolA の N-末端の 2 個の陽性荷電のアミノ酸 (H32, K34) と CutL1 分子表面の 3 個の陰性荷電のアミノ酸 (E31, D142, D171) が静電的相互作用することが明らかになった。RolA の PBSA 表面への吸着部位は、変異体解析により C7(Cys87)-C8(Cys106) の疎水領域に存在することが明らかとなった (8)。また、CutL1 及び界面活性蛋白質の両方を高発現する組み換え麹菌を造成して、PBSA 分解系のスケールアップも行っている (3)。現在までに、CutL1-RolA 高発現麹菌を用いた PBSA の固体発酵で、80% 以上の PBSA 分解率を達成している。界面活性蛋白質群は、一般に分子量 2 万以下であり、ゲノム情報としてアノテーションが付いているものは殆ど無い。今後も、固体基質に応じて、新たな足場界面活性蛋白質-酵素の組み合わせが見出される可能性が高い。

3. 麹菌界面活性蛋白質の新たな応用の可能性-医療用ナノ粒子

近年、ヒト感染性糸状菌のハイドロフォビンが、動物の免疫応答を回避する性質を有することが報告された (9)。そこで我々は、イメージングや治療を目的とした医療用ナノ粒子を麹菌界面活性蛋白質 RolA で被覆して、粒子に免疫応答回避性を付与する開発を行っている (10,11)。RolA 被覆粒子は、樹状細胞やマクロファージによる認識の回避に成功している。麹菌 RolA は工業生産されている麹からの抽出が可能であり、従来の製造工程を生かした新たなファインケミカル素材と言える。

[文献]

- 1) Machida M. et al., *Nature* **438**: 1157-1161 (2005)
- 2) Abe K. et al.: "Novel Industrial Applications of *Aspergillus oryzae* Genomics." *Molecular Biology and Genomics*, Chapter 10, pp. 199-227, Horizon Press, (2010)
- 3) 阿部敬悦ら, 特許 4273504 号「プラスチックの分解方法及びそれを利用した有用物質の製造方法」(2009)
- 4) 阿部敬悦, 五味勝也 *グリーンプラジャーナル* **19**: 16-22 (2005)
- 5) Maeda H. et. al., *Appl. Microbiol. Biotech.* **67**: 778-788 (2005)
- 6) Takahashi T. et al., *Mol. Microbiol.* **57**: 1780-1798 (2005)
- 7) Ohtaki S. et al., *Appl. Environ. Microbiol.* **72**: 2407-2413 (2006)
- 8) Tanaka T. et al., *Biosci. Biotech. Biochem.* In press (2014)
- 9) Amanianda V. et al., *Nature* **460**: 1177-1121 (2009)
- 10) 阿部ら, 特願 2011-176686 (2011)「免疫応答を回避するための薬剤」
- 11) Togashi T, et al., *J. Mater. Chem.* **22**: 9041-9045 (2012)