

糸状菌の多細胞連絡の制御における

トランスグルタミナーゼ酵素機能の解析

東京大学大学院農学生命科学研究科 丸山 潤一



【略歴】

1996年 東京大学農学部農芸化学科 卒業

2001年 東京大学大学院農学生命科学研究科 博士課程修了、博士(農学)学位取得

2001年 東京大学大学院農学生命科学研究科 研究員

2006年 同上 助教、この間 2010年 ゲオルク・アウグスト大学ゲッティンゲン 客員研究員

2016年 東京大学大学院農学生命科学研究科 特任准教授(現在に至る)

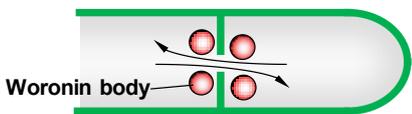
糸状菌(カビ)は、醸造発酵や酵素・医薬生産などの産業的に有用なものがある一方で、ヒトや農作物に病原性を示すものなど、多様な種から構成される微生物である。これらの形態的特徴として、菌糸状に生育し、隔壁により仕切られた細長い細胞が連なる多細胞生物として生育することが挙げられる。隔壁には隔壁孔と呼ばれる小さな穴があき、これを介して隣接した細胞は連絡を行っている(図 1)。この細胞間連絡は、動物のギャップ結合・植物の原形質連絡のような多細胞生物として共通する性質であり、真核生物のなかでもっとも単純な構造で始原的な細胞間連絡と言える。

糸状菌の隔壁孔を介した細胞間連絡に関して、糸状菌特異的なオルガネラ Woronin body が溶菌時に隔壁孔をふさぎ、隣接する細胞へ溶菌が伝播するのを防ぐ分子機構の解析が主に行われてきた(図 1)。一方で、細胞間連絡の制御に関する因子の知見は断片的で限られており、糸状菌が細胞間連絡を制御する分子機構の全貌の解明までは進んでいない。

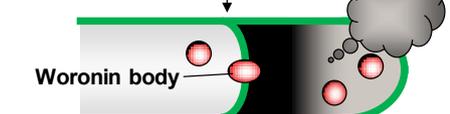
A. oryzaeの隔壁孔近傍の透過型電子顕微鏡写真



隣接する細胞は隔壁孔を介して連絡している



<菌糸が溶菌すると>



Woronin bodyが隔壁孔をふさいで、溶菌の伝播を防ぐ

図 1

多細胞の糸状菌特異的に存在する遺伝子からの細胞間連絡の制御因子の探索

我々は、日本の伝統的醸造産業ならびに酵素生産に利用されている麹菌 *Aspergillus oryzae* において、糸状菌の細胞間連絡の制御に関する解析を行ってきた^[1]。そのきっかけとなったのは、*A. oryzae* の酵素生産において行われている固体培養で水を添加して酵素を抽出する過程をヒントに、寒天培地に生育したコロニーに水を添加する「低

低浸透圧ショックによる溶菌

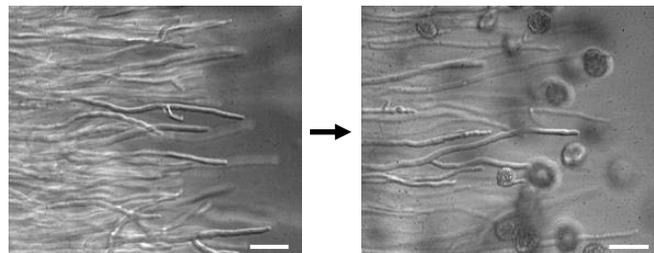


図 2

浸透圧ショック実験」である。その結果、菌糸先端細胞が溶菌する特異な現象を発見し(図 2)、溶菌時の細胞間連絡の制御を解析する実験系を確立した^[2]。そして、Woronin body が隔壁孔をふさ

ぐ様子を蛍光タンパク質によって初めて可視化し、その機能および形成機構を明らかにした^[3-5]。

糸状菌の細胞間連絡の制御機構について Woronin body 以外の知見は断片的であり、その制御機構の全貌を説明するに至っていない。そこで我々は、多細胞の糸状菌特異的に存在する機能未知タンパク質から、細胞間連絡の制御に関与する因子を探索することにした。*A. oryzae* の全 12,090 遺伝子を対象に、比較対象として多細胞の糸状菌と共通して保存され、単細胞の酵母に保存されていない遺伝子を抽出した。細胞骨格アクチンに関連した Gene Ontology を有する遺伝子より未解析の遺伝子を選んだところ、隔壁形成および細胞間連絡の制御に関与することを明らかにした^[6]。

網羅的局在スクリーニングによる隔壁局在トランスグルタミナーゼ様タンパク質の発見

続いて、糸状菌特異的に存在する Gene Ontology の説明がなされていない機能未知の 767 遺伝子について、コードするタンパク質に緑色蛍光タンパク質 GFP を融合して網羅的な局在解析を行った。その結果、約 60 個が隔壁に局在することを見いだした。当該遺伝子について破壊株を取得し、「低浸透圧ショック実験」を行った結果、半数近くの破壊株で細胞間連絡の制御に異常があることがわかった。

そのなかで、最も顕著であったのは、トランスグルタミナーゼドメインをもつタンパク質をコードする遺伝子であった。トランスグルタミナーゼは特定のタンパク質どうしを架橋する酵素であり、微生物(放線菌)由来の酵素は食品物性を修飾するため産業的に利用されている。動物のトランスグルタミナーゼでは血液の凝固や皮膚表皮形成などに関与することが知られているが、微生物における生理的機能の知見は乏しい。

このタンパク質は、通常の生育条件では主に細胞質に存在するが、「低浸透圧ショック実験」により溶菌を誘導すると隔壁孔に蓄積した(図3)。また、トランスグルタミナーゼドメイン内の保存触媒残基に相当するアミノ酸に変異を導入したところ、破壊株と同様の細胞間連絡の制御の異常が確認された。

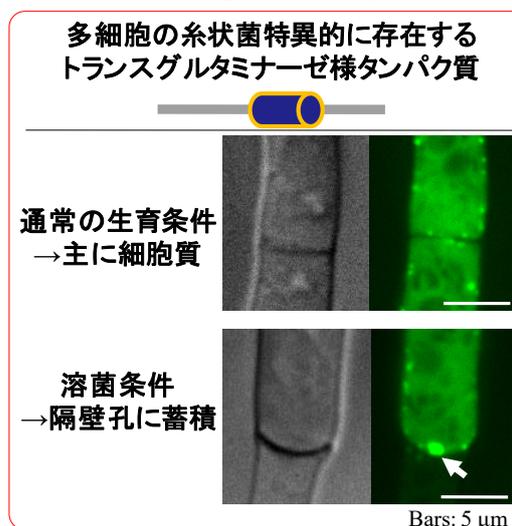


図 3

今後の展望

本研究では、糸状菌特異的に存在する機能未知な遺伝子からのスクリーニングから、細胞間連絡の制御に関与するものとしてトランスグルタミナーゼ様タンパク質を見いだした。今後のトランスグルタミナーゼの酵素作用および活性の細胞内局在の解明を通じて、糸状菌が多細胞として生存するための細胞間連絡の制御機構を解明したいと考えている。

[1] Maruyama and Kitamoto (2019) *The MYCOTA* 8:3-14.

[2] Maruyama *et al.* (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 331:1081-1088.

[3] Escaño *et al.* (2009) *Eukaryot. Cell* 8, 296-305.

[4] Bleichrodt *et al.* (2012) *Mol. Microbiol.* 86:1334-1344.

[5] Han *et al.* (2014) *Eukaryot. Cell* 13:866-877.

[6] Mamun *et al.* (2020) *Mol. Microbiol.* in press.