

講演番号：3E32a10

講演日時、会場：3月28日 10:49～ E 校舎 32 会場

糸状菌 *Aspergillus nidulans* が分泌する新規 *endo*-1,4- β -マンナナーゼの発見と機能解析

Discovery of novel *endo*-1,4- β -mannanase from fungus *Aspergillus nidulans*

○石原 紗彩耶¹、金子 優平¹、望月 麻衣¹、山本 竜也¹、山田 みゆき¹、井村 宗仁¹、小林 哲夫²、志水 元亨¹、加藤 雅士¹ (¹名城大・農、²名大院・生命農)

○Saaya ISHIHARA¹, Yuuhei KANEKO¹, Mai MOCHIZUKI¹, Tatuya YAMAMOTO¹, Miyuki YAMADA¹, Takahito IMURA¹, Tetsuo KOBAYASHI², Motoyuki SHIMIZU¹, Masashi KATO¹ (¹Meijo Univ., ²Nagoya Univ.)

【目的】

β -マンナンは針葉樹、グァーガムやコーヒー豆などの様々な植物に含まれる難分解性の多糖で、環境中に多く存在する未利用バイオマスの1つである。我々は、 β -マンナンを唯一の炭素源として糸状菌 *Aspergillus nidulans* を生育させた際に、glycoside hydrolase family 5 (GH5) に属する一般的な *endo*-1,4- β -マンナナーゼと共に多量に細胞外に分泌される機能未知タンパク質 (HP) を見出した。HP は、機能が分かっている既知のタンパク質と全く相同性を有しておらず、推定される機能ドメインも含んでいなかった。本研究では β -マンナン応答的に生産される HP の機能を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】

様々な多糖類を炭素源として *A. nidulans* を生育させた際の *hp* 遺伝子の転写量を定量 PCR にて測定した。その結果、タンパク質レベルでの解析結果と同様に、 β -マンナンを炭素源とした場合でのみ *hp* は発現していた。このことから、HP は β -マンナンの分解に関わっていることが示唆された。そこで、大腸菌を宿主として、N-末端に 6×His タグを付与した HP のリコンビナントタンパク質 (rHP) を作製した。種々の多糖を基質として rHP による分解活性を測定したところ、rHP は β -マンナンのみを特異的に加水分解した。rHP による β -マンナンの分解産物を TLC にて解析したところ、マンノペンタオース、マンノテトラオースおよびマンノトリオースが生成していた。一方、GH5 に属する *A. nidulans* 由来 *endo*-1,4- β -マンナナーゼを *Pichia pastoris* にて発現させ同様に解析したところ、単糖にまで分解されていた。さらに、糸状菌に広く分布する既知の *endo*-1,4- β -マンナナーゼである GH5 と GH26、および一部の糸状菌のみが有する HP のアミノ酸配列を基に分子系統樹を作成したところ、HP は GH5、GH26 と異なるクラスターを形成した。これらのことから、今回発見した *A. nidulans* 由来の HP は、新規の *endo*-1,4- β -マンナナーゼであり、新しい GH ファミリーに属するものであることが示された。

なお、本研究の一部は生研センター「イノベーション創出基礎的研究推進事業」の支援を受けて行われた。

endo-1,4- β -mannanase, *Aspergillus nidulans*, β -mannan