木材の生分解を担う微生物システム

桑原正章*

リグニン分解の酵素化学と分子生物学

木材の構成成分として地球上に大量に存在する芳香族高分子化合物リグニン。リグニンの分解は資源利用の点からも、地球上の炭素循環の点からも重要であるが、近年ようやくその生物分解機構が明らかにされてきた。これまでに、ある種のペルオキシダーゼがリグニン分解機能をもつことが見つっているが、この酵素は他のペルオキシダーゼとどこが違うのか。リグニン分解酵素とそれをコードする遺伝子の構造について研究の現状を紹介する。

1993年4月16日付の *The New York Times* に “Animals and Fungi: Evolutionary Tie?” と題した記事が掲載された。この記事の中央には大きなキノコの写真がすえられている。この記事は、菌類 (fungi) は進化の上では植物よりもむしろ動物に近いとし、16 (18) S-rRNA の塩基配列をもとにして作成された進化の系統樹の上では菌類と動物は同じ祖先をもち、約 11 億年前に植物と別れたとするカリフォルニア大学バークレイの Talar らの最近の研究を紹介したものである。ちなみに同博士は、平成 5 年 12 月に千葉で開かれた国際菌学会においてもこれに関連する講演を行っている。最近、Wainright ら⁽¹⁾も *Science* 誌で、動物と菌類の最後の共通の祖先は現存する有鞭毛原生生物 *Choanoflagellates* であるとしている。いずれの発表も、菌類を含めて、微生物が植物に近いという分類体系に慣れている者にとっては目新しいものである。

一方、生物が木材腐朽能を獲得したのはデボン紀 (約 4~3.6 億年前) ころであろうと考えられる。というのは、白色腐朽された樹木がデボン紀、ペルム紀、三疊紀の化石として発見されている⁽²⁾からである。当然のことながら、木材腐朽能やリグニン分解能は植物が発生した後に微生物が獲得したものであり、リグニンが分解されるのはそれを分解する微生物にとっては何らかの利益があるはずである。リグニンの分解やそれに関与す

る遺伝子を、進化という観点から眺めるのも興味深いことである。後述するように、リグニン分解に関与するペルオキシダーゼも進化の過程を経ていると考えられるからである。

リグニン分解菌とリグニン分解酵素

リグニンはセルロースやヘミセルロースとともに木材を構成し、接着剤として木材細胞を相互に結合し、木材に強度を与える機能をもつ。したがって、リグニンの存在は木材 (あるいは樹木) が外部からの攻撃を受け難い一つの要因ともなっている。化学的には、リグニンはベンゼン環に炭素数 3 の側鎖をもつ基本構造がランダムに三次元的に結合して生じた高分子化合物である。自然界でリグニンを分解する能力のあるのは、木材腐朽菌のうち白色腐朽菌 (white rot fungi) と呼ばれる一群の担子菌類である。しかし、これらの菌においてもリグニンのみを分解するのではなく、程度の差はあれ、セルロースやヘミセルロースをも同時に分解している。細菌でも木材を腐朽 (あるいは劣化) するものがあるが、リグニンに対しては、分解はごく部分的なものと考えられている。

リグニンは上記のように複雑な分子構造を有しているため、それぞれの結合に特異的な酵素群が存在するという事は考え難い。リグニンが生合成される場合には、前駆体のシンナミルアルコール誘導体からペルオキシダーゼによってラジカルが生成し、それがランダムに重合する。このような反応が、リグニンの分解にも適用されるということ予想するほうが理にかなっている。実際、

Enzyme Chemistry and Molecular Biology of Lignin Degradation

* Masaaki Kuwahara, 京都大学木質科学研究所

これまでに得られているリグニン分解酵素は、いずれもラジカルの生成を直接的あるいは間接的に触媒する酵素である。リグニン分解酵素とその反応機構については、総説^(3,4)や成書⁽⁵⁾を参照していただきたい。

これまでに知られているリグニン分解酵素は次の3つである。

a) ジアリルプロパンペルオキシダーゼ(ただし、通常はリグニンペルオキシダーゼあるいはリグニナーゼと呼ばれる) (EC 1.11.1.14)

この酵素(以下, LiP と略称する)は、プロトポルフィリンIXを補欠分子とするヘム酵素である。電子受容体は過酸化水素である。この酵素は基質の芳香環から1電子を引き抜き、芳香環にカチオンラジカルを形成する。基質となるリグニンモデル化合物は非フェノール性の芳香族である。反応は図1に示すスキームによって行なわれる。最初、*Phanerochaete chrysosporium* の培養液から得られたが、その後いくつかの白色腐朽菌からも分離されている。酸性蛋白質で、一群のアイソザイムとして産生される。

b) マンガンペルオキシダーゼ (EC 1.11.1.13)

この酵素(以下, MnP と略称)もヘム蛋白質である。図1に示すように、この酵素の直接の基質は Mn(II) で、過酸化水素の存在下で Mn(II) を Mn(III) に酸化する。Mn(III) はフェノール性物質が存在するとこれを酸化し、フェノキシラジカルを形成し、再び Mn(II) にもどる。最

図1 ■ LiP (A) および MnP (B) による基質の酸化過程

初、*P. chrysosporium* から単離されたが、その後、他の白色腐朽菌から分離されている。菌によっては MnP 活性のみが検出される⁽⁶⁾。MnP も一群のアイソザイムとして産生される。

c) ラッカーゼ (EC 1.10.3.2)

この酵素(以下, Lac と略称)は銅を補欠分子族とする。この酵素もフェノール性の基質に作用し、フェノキシラジカルを形成する。白色腐朽菌や子の菌など、多くの糸状菌で分離されている。ラッカーゼが本質的にリグニン分解に関与しているかどうかについてはまだ十分に評価が定まっていない。この酵素がもともとウルシの生合成に関与する酵素として見いだされたためかも知れない。本来の機能がフェノール性物質の酸化分解や重合にあるとする見方もある。

LiP および MnP 活性発現の特徴

培養系でのリグニンの分解過程やリグニン分解酵素の生産にはいくつかの特徴が見られる。まず、これらの酵素の生産は、菌の生育が休止期に入ってから行なわれる。これはリグニンの分解が二次代謝であることを示している。この現象は、リグニンとして化学合成リグニン (DHP: dehydrogenation polymer) を用いた場合に顕著に観察される。次に、リグニン分解酵素の生産は誘導

図2 ■ HPLC による *P. chrysosporium* 培養液中の LiP と MnP の分画⁽⁷⁾

実線: A 409 nm, 破線: A 280 nm, H: ヘム蛋白質のピーク, +: ペラトリルアルコール酸化活性 (LiP), -: ペラトリルアルコール酸化活性なし (MnP)。ヘム蛋白質の番号を LiP アイソザイムの番号としている。

的に行なわれることである。ペラトリルアルコール (3,4-dimethoxybenzyl alcohol) が誘導基質になる。興味深いことに、この物質自身が二次代謝産物である。MnP では窒素の濃度を制限し、Mn(II)を添加すると高い活性が得られる。さらに、これらの酵素は単一の蛋白質ではなく、多数のアイソザイムの混合物として生産される。イオン交換 HPLC での LiP と MnP の分離の一例を図 2⁽⁷⁾に示す。以上の発現の遺伝学的根拠については次の項で述べる。

リグニン分解酵素をコードする遺伝子

1. *lip* と *mnp*

この両酵素とも、言うまでもなくペルオキシダーゼの一種である。したがって、他のペルオキシダーゼ、すなわち、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) など植物起源のペルオキシダーゼや酵母チトクローム C ペルオキシダーゼ (CCP) などと類似性の高いドメインをもつ。問題は、なぜ LiP や MnP はリグニンに作用するのに、他の酵素はリグニンを分解しないか、ということである。

これまで *lip* 遺伝子の構造については、*P. chrysosporium* で最も詳細に検討されている。この他、*Phrebia radiata* (コガネシワウロコタケ)、*Bjerkandera adusta* (ヤケイロタケ)、*Trametes (Coriolus) versicolor* (カワラタケ) などでも検討されている。ここでは主として *P. chrysosporium* の *lip* と *mnp* について述べる。なお、両遺伝子については最近の Gold と Alic の総説⁽⁸⁾に詳しく述べられている。

a) コード領域、イントロン、リーダー配列

これまで、LiP の主要アイソザイム H8 の他に、H2, H6, H10 (図 2 参照) に相当するそれぞれの遺伝子が cDNA あるいは染色体 DNA からクローニングされている。これらの間の相関性については、H2 との相関性は若干低い、H6~H10 では 86~95% ときわめて高い。H8 は 345 個のアミノ酸をコードする配列からなり、8 個所に 49~78 bp のイントロンが挿入されている。また、N 末端側には 28 個のアミノ酸からなるシグナルペプチドが存在する。しかし、H8 に

についても菌株により配列において若干の相違が認められる。生産される酵素は糖蛋白質であり、1 個所の N-グリコシル化サイト (Asn-X-Thr/Ser) が存在する。コード領域での GC 含量は 60~65% である。

シグナルペプチドにおいては、上流 20 アミノ酸と下流 8 アミノ酸がイントロンで分断されているが、この部分は 2 段階で切断されると考えられている。すなわち、シグナルペプチドはまず 21 番目の Ala の後の位置でシグナルペプチダーゼにより分解され、生じたプロペプチドは酵母 Lex 2 エンドペプチダーゼと同様な酵素により、Lys-Arg の後で切断される⁽⁹⁾と推測される。

一方、*mnp* についても、主要アイソザイムの MnP1 をコードする遺伝子がクローニングされた⁽¹⁰⁾。この配列は 357 アミノ酸とシグナルペプチドに相当する 21 アミノ酸をコードしている。コード配列の GC 含量は 68% であった。また、57~72 bp の 6 個のイントロンを含む。しかし、このイントロンは *lip* の場合と異なり、シグナルペプチドの内部には存在してはいない。

ところで、ペルオキシダーゼの構造中には、活性に関与するいくつかの重要なアミノ酸が存在する。たとえば、遠位 (distal) と近位 (proximal) の His、遠位の Arg、近位の His と水素結合している Asp である。また、これらの近傍のアミノ酸の配列は、ペルオキシダーゼのみならず LiP においてもよく保存されている。近位および遠位 His と Asp 近傍のアミノ酸配列の類似性を図 3 に示す。

b) 調節領域

lip-H8 遺伝子の 5' 側上流域転写開始点から -81~-66 には TATA ボックスが、また -101 と -228 には CAAT が認められる。一方、*mnp* 遺伝子においても -81 には TATAA が、またさらに上流には 3 個所に CAAT 配列が認められている。

先述のように、*lip* と *mnp* の発現には種々の調節機構が働いているが、これらの調節は主として転写の段階で行なわれていると考えられ、コード領域上流にはこれらに関係する塩基配列が認め

遠位 His 近傍のアミノ酸配列

LiP2	33	A	H	E	S	I	R	L	V	F	H	D	S	I	A	I	S	R	54
MnP1	37	A	H	E	V	I	R	L	T	F	H	D	A	I	A	I	S	R	53
LPO2	39	A	H	Q	A	I	R	L	T	F	H	D	A	V	A	F	S	P	55
APO	47	V	R	K	I	L	R	I	V	F	H	D	A	I	G	F	S	P	64
HRP	33	A	A	S	I	L	R	L	H	F	H	D	C	F	V	N	G	C	49
CCP	43	G	P	V	L	V	R	L	A	W	H	T	S	G	T	W	D	K	59

近位 His 近傍のアミノ酸配列

LiP2	166	E	L	E	L	V	W	M	L	S	A	H	S	V	A	179
MnP1	163	P	F	E	V	V	S	L	L	A	S	H	S	V	A	176
LPO2	167	E	L	E	T	V	W	G	L	I	A	H	T	V	G	180
APO	174	P	D	E	V	V	D	L	L	A	A	H	S	L	A	187
HRP	160	S	S	D	L	V	A	L	S	G	G	H	T	F	G	173
CCP	164	D	R	E	V	V	A	L	M	G	A	H	A	L	G	177

図 3 ■ 活性部位近傍に保存されているアミノ酸配列

同一のアミノ酸は実線で、類似のアミノ酸は破線で囲ってある。

LiP2: *P. chrysosporium* LiP, MnP1: *P. chrysosporium* MnP, LPO2: *B. adusta* LiP⁽¹¹⁾, APO: *Arthromyces ramosus* ペルオキシダーゼ⁽¹²⁾, HRP: 西洋ワサビペルオキシダーゼ, CCP: 酵母チトクローム C ペルオキシダーゼ (文献 8) に加筆)

られる。

以前から、*P. chrysosporium* のリグニン分解に先立って、菌体内のサイクリック AMP (cAMP) の濃度が上昇することが見いだされていた⁽¹³⁾。さらに、この菌の培養液にアトロピン、テオフィリンなどの cAMP 合成阻害剤を添加すると菌体内の cAMP 濃度が低下し、それとともに LiP と MnP の活性が低下すること、また *mnP* よりも *lip* がこれら阻害剤に対する感受性が高いことも見いだされている⁽¹⁴⁾。cAMP の細胞内受容体は cAMP 依存性プロテインキナーゼと考えられており、このキナーゼは cAMP と結合することによりターゲットとなる DNA の配列、たとえば cAMP-response element 結合配列 (CRE) や cAMP-responsive activating protein 2 結合配列 (AP-2) と結合する特定の調節蛋白質をリン酸化する。このようなリン酸化調節蛋白質は種々の cAMP 応答性細胞や組織について報告されているが、*P. chrysosporium* では未だ見いだされていない。*lip* 遺伝子のプロモーター上流域では、CRE のコンセンサス配列 (T (G/T)ACGTCA)

や AP-2 のコンセンサス配列 (TGGGGA) に類似の配列が、それぞれ -228 付近と -161 付近に見いだされている⁽¹⁵⁾。さらに、芳香族炭化水素への応答に関与する xenobiotic response element (XRE) も -179 付近に存在する。一方、*mnP* (たとえば *mnP-1*) についてみると、AP-2 類似の配列が上流域 -285 付近に認められる⁽¹⁶⁾。

MnP の調節領域については、さらに詳細に調べられ、プロモーター側にいくつかの応答エレメントが見いだされている。MnP の産生は培地中の窒素源の濃度に影響を受けることはすでに述べたが、この酵素の産生は Mn(II) の濃度によっても影響を受ける。この時のノーザン

ブロットによる解析では、Mn(II) が存在する場合においてのみ mRNA が合成されていることが示され、DNA 上にも金属応答エレメント (metal response element: MRE) のコンセンサス配列 (およびその逆配列) TGCRCYCG (R: プリン, Y: ピリミジン) に相当する TGCACATC, GCGTGCA, TGCACAC, GTGTGCA および TGCACGC の 5 つの配列が見いだされた⁽¹⁶⁾。また、*P. chrysosporium* の培養を 45°C に 1 時間保つと、Mn(II) が存在しない場合でも MnP に相当する mRNA が急激に合成されるが、ヒートショックエレメント (HSE) のコンセンサス配列 C—GAA—TTC—G に相当する配列が 3 箇所に見いだされた。さらに、転写因子 SP-1 認識部位 GGGCG が -446 に見いだされた⁽¹⁵⁾。2 つの MnP アイソザイムにおける以上の種々の配列を図 4 に示す。以上のように、*lip* と *mnP* の発現に關与すると考えられる調節因子が認識すると考えられる配列が検出されたが、それらを直接活性化する因子の解析はまだ行なわれていない。

図 4 ■ MnP1 のプロモーター領域⁽⁸⁾

■: TATAA, ▲: CCAAT, ○: HSE, □: MRE

c) LiP の高次構造

最近, *P. chrysosporium* LiP 結晶の高次構造が解析され, 酵母チトクロームCペルオキシダーゼ (CCP) と比較されている⁽¹⁷⁾. それによれば, 両者ともヘムの保持に関与する近位の His と Asp 残基, および過酸化水素結合ポケットにおける遠位の His と Arg の位置については共通するものの, 構造 Ca イオンが LiP にあるのに対して CCP には存在しないこと, ヘムポケットは溶媒に対して開かれているが, その空間の大きさが LiP よりも CCP のほうが大きいなど, 反応性に関与する構造に相違が認められている.

また最近, 糸状菌 *Arthromyces ramosus* のペルオキシダーゼの高次構造が決定された⁽¹⁸⁾が, *P. chrysosporium* の LiP との詳細な比較が待たれる.

2. ラッカーゼ (フェノールオキシダーゼ) 遺伝子

白色腐朽菌においては, *Coriolus hirsutus* (アラゲカワラタケ)⁽¹⁹⁾や *C. versicolor* (カワラタケ)⁽²⁰⁾の遺伝子がクローニングされている. 前者の cDNA からは 499 のアミノ酸残基とシグナルペプチドに相当する 21 アミノ酸残基からなる塩基配列が決定された. また, 染色体 DNA からのクローニングにより 10 個所のイントロンが検出されている. 後者については, 21 アミノ酸残基のシグナルペプチドを含む 499 アミノ酸の配列が決定されている. イントロンは 8 個所に挿入されている. 木材腐朽性のない担子菌 *Agaricus bisporus* (マッシュルーム)⁽²¹⁾では 2 つのラッカーゼ遺伝子 (*lac-1* と *lac-2*) が明らかになっている. 前者と後者の配列 (520 アミノ酸残基) は 36 のアミノ酸で異なっているだけであった.

形質転換系の開発

1. 形質転換のためのベクター系の構築

現在のところ, 白色腐朽菌の形質転換について, 未だ確立された系が開発されているとはいえない. 以下に述べるように, リグニン分解に用いられている *P. chrysosporium* についての検討が先行している状態である.

a) *P. chrysosporium* の系

白色腐朽菌 *Schizophyllum commune* (スエヒロタケ) では比較的早くから形質転換が検討され, この菌の *trp1⁻* 株が *Trp1* (インドール-3-グリセロールホスフェート合成酵素) 遺伝子を含む配列により形質転換されることが見いだされていた⁽²²⁾. しかし, この菌のリグニン分解能は低く, 得られた形質転換プラスミドは後述するように, *P. chrysosporium* のプラスミドの構築に用いられている.

P. chrysosporium では, 形質転換のための遺伝子マーカーとして各種の栄養要求株が分離されている. この担子菌は分生孢子を形成するので, この孢子を紫外線照射することによって変異株を得ることが可能である⁽²³⁾. ただし, この孢子は多核である. また, 遺伝子の導入はプロトプラスト化された担子孢子が用いられていることが多い.

P. chrysosporium を用いて行なわれる形質転換は, heterologous なもの, すなわち他の微生物の遺伝子による形質転換と, homologous なもの, すなわち *P. chrysosporium* 自身の遺伝子による形質転換の 2 つである. 最初に試みられた heterologous な本菌の形質転換は, *S. commune* のアデニン合成遺伝子⁽²⁴⁾を pUC18 に連結して *P. chrysosporium* の 2 種類の相補性の異なる *Ade⁻* (*ade2* と *ade5*) 株のプロトプラスト化した担子

胞子に導入するもので、導入された DNA はゲノムの異なった場所に多コピーの状態が存在することが確認された⁽²⁵⁾。同様に、この菌の *ura 3⁻* (オロチジル酸デカルボキシラーゼ欠損) 株と *ura 5⁻* (オロチジル酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ欠損) 株は *S. commune* のそれぞれの *ura* を含むプラスミドによってもその栄養要求性が解除されている⁽²⁶⁾。

さらに、homologous な形質転換が試みられている。*P. chrysosporium* の *ade 1* (ホスホリボシルアミノイミダゾール合成酵素) をコードする遺伝子 *ade 1* がクローニングされ、この配列を連結した pUC 18 により *ade 1⁻* 株が相補された⁽²⁷⁾。また同様に、*ura 3* 遺伝子を pUC 18 に連結したベクターによっても *ura 3⁻* 株が相補されている⁽²⁸⁾。

一方、他の真核生物でも試みられているように、選択マーカーとしては、以上のような栄養要求性によるもののほかに、薬剤耐性のようなポジティブ選択も有効と考えられている。たとえば、*P. chrysosporium* の形質転換についてはカナマイシン耐性因子 (Tn 903) をもつベクターの利用が検討されている。すなわち、酵母の *ura 3*, *kan^r*, pBR 322 の *ori* と *amp^r*, *P. chrysosporium* の自律複製配列 (*ars*) (酵母系プラスミド YIp 5 を用いてゲノム DNA より得られている) を連結したベクターから再構築されたベクターが、本菌に G 418 耐性を付与したことが報告されている。このプラスミドはコピー数は少ないが、環状で染色体外において安定に保たれた⁽²⁹⁾。

b) *P. chrysosporium* 以外の系

P. chrysosporium 以外の白色腐朽菌についてもベクターの構築が試みられている。*Pleurotus ostreatus* (ヒラタケ) では、大腸菌のハイグロマイシン B ホスホトランスフェラーゼ (*hph*) 遺伝子を *Aspergillus nidulans* のグリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 (*gpd*) の 5' 発現シグナルと同じく *A. nidulans* のトリプトファン合成酵素 (*trp C*) のトランスクリプシオン-ターミネーション配列に挟み込んだベクターが作製され、プロトプラストにエレクトロポレーションにより導入されて

いる。これにより *P. ostreatus* はハイグロマイシン B 耐性となり、導入されたプラスミドは染色体外で複製されていた⁽²⁹⁾。

一方、担子菌に由来するプラスミド自身や、染色体やミトコンドリア DNA からベクターが構築される可能性がある。この方法では、それらの複製開始点 (*ori*) や *ars* を利用することができる。これまで、担子菌のプラスミドやミトコンドリア DNA の分離が試みられている。*Lentinus edodes* (シイタケ) からは 11 kb⁽³⁰⁾、また *P. ostreatus* からは 9.4 kb と 10 kb⁽³¹⁾ の鎖状プラスミドが検出されている。これらはいずれもミトコンドリア内在性であった。また、*L. edodes* のミトコンドリア DNA (69 kb) からは *ars* がクローニングされている⁽³⁰⁾。

2. リグニン分解酵素遺伝子による形質転換

形質転換株における酵素の生産についてのいくつかの試みが報告されているが、実用という段階にはまだかなりの隔りがある。最初に、*lip* 遺伝子による大腸菌の形質転換が試みられた。これによれば、この酵素はアポ蛋白質の状態で封入体として産生された⁽³²⁾。また、酵母の形質転換についても特許となっているが、十分な活性をもつ蛋白質としては産生されていない。最近、LiP(H 8) と MnP(H 4) について、バキュロウイルスのベクター系を用いてヨトウガ細胞を形質転換することが試みられ、プロトポルフィリン IX を含むホロ酵素が産生された^(33,34)。

また、先述の *Coriolus hirsutus* ラッカーゼの DNA は酵母の発現ベクター YEp 51 に連結され酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) に導入されて、形質が発現された⁽¹⁹⁾。

リグニンペルオキシダーゼと他のペルオキシダーゼの関連性

冒頭で述べたように、リグニンの分解能の獲得と生物の進化との関連が注目される。リグニン分解性のペルオキシダーゼと他のペルオキシダーゼがどのように進化してきたのかについては、近年それらの遺伝子構造が明らかになるにつれて、推

測されるようになってきている。

現在、種々のペルオキシダーゼをアミノ酸の一次構造、X線回折、NMR 分析などをもとにして、次のように3つのクラスに分けることが提案されている⁽³⁵⁾。

クラス1：原始核生物起源と考えられるペルオキシダーゼ（酵母チトクロームCペルオキシダーゼ(CCP)、バクテリアのペルオキシダーゼ、クロロプラストと細胞質アスコルビン酸ペルオキシダーゼ）

クラス2：細胞外糸状菌ペルオキシダーゼ

クラス3：分泌性植物ペルオキシダーゼ

これらのクラスはペルオキシダーゼの進化を表わしているものとも考えられる。すなわち、それらの構造を比較することにより、5つのヘリックス、ヘムと結合する His、His と水素結合する Asp あるいは Asn、Ca²⁺ 結合部位から構成されている起源遺伝子 (ancestral gene) が存在し、それが重複、欠損などを繰り返して現在の構造になったことが想像できる。また、このことは現在のペルオキシダーゼには複数のアイソザイム、あるいは多重遺伝子群 (multiple gene family) が存在することを説明する根拠ともなる。

LiP や MnP が他のペルオキシダーゼとどのように異なるのか、すなわち、なぜこの2つのペルオキシダーゼがリグニン分解能をもつのか。これについては、LiP の活性中心付近の酸化-還元電位が他のペルオキシダーゼのそれに比べて高いため、電子を引き抜く能力が高く、これがリグニンの分解作用の理由とされている。生物が過酸化水素の消去系としての機能を発達させてきたペルオキシダーゼ(浅田浩二：私信)が、進化の過程でこのような能力を付与されてきたことは興味深い。

文献

- 1) P.O. Wainright, G. Hinkle, M.L. Sogin & S.K. Stuckel : *Science*, **260**, 340 (1993).
- 2) S.P. Stubblefield & T.N. Taylor : *Bot. Gaz.*, **147**, 116 (1986).
- 3) 桑原正章：バイオサイエンスとインダストリー, **50**, 11 (1992).
- 4) M.H. Gold, H. Wariishi & K. Valli : in "Biocatalysis in Agricultural Biotechnology", American Chemical Society, 1989, p.127.
- 5) 樋口隆昌：“木質生化学”，文永堂，1993，p. 198.
- 6) H. Kofujita, A. Matsushita, T. Ohsaki, Y. Asada & M. Kuwahara : *Mokuzai Gakkaishi*, **38**, 950 (1992).
- 7) T.K. Kirk, S. Cron & M. Tien : *Enzymes Microb. Technol.*, **8**, 27 (1986).
- 8) M.H. Gold & M. Alic : *Microbiol. Rev.*, **57**, 605 (1993).
- 9) T.G. Ritch Jr., V.J. Nipper, L. Akileswaran, A.J. Smith, D.G. Pribnow & M.H. Gold : *Gene*, **107**, 119 (1991).
- 10) D. Pribnow, M.B. Mayfield, V.J. Nipper, J.A. Brown & M.H. Gold : *J. Biol. Chem.*, **264**, 5036 (1989).
- 11) Y. Kimura, Y. Asada, T. Oka & M. Kuwahara : *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **35**, 510 (1991).
- 12) 天野輝夫：私信
- 13) M.J. MacDonald, A. Paterson & P. Broda : *J. Bacteriol.*, **164**, 470 (1984).
- 14) K. Boominathan & C.A. Reddy : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 5586 (1992).
- 15) T.G. Ritch Jr. & M.H. Gold : *Gene*, **118**, 73 (1992).
- 16) B.J. Godfrey, M.B. Mayfield, J.A. Brown & M.H. Gold : *Gene*, **93**, 119 (1990).
- 17) T.L. Poulos, S.L. Edwards, H. Wariishi & M.H. Gold : *J. Biol. Chem.*, **268**, 4429 (1993).
- 18) N. Kunishima, K. Fukuyama, S. Wakabayashi, M. Sumida, M. Takaya, Y. Shibano, T. Amachi & H. Matubara : *Proteins*, **15**, 216 (1993); N. Kunishima, K. Fukuyama, H. Matubara, H. Hatanaka, Y. Shibano & T. Amachi : *J. Mol. Biol.*, in press.
- 19) Y. Kojima, Y. Tsukada, Y. Kawai, A. Tsukamoto, J. Sugiura, M. Sakano & Y. Kita : *J. Biol. Chem.*, **265**, 15224 (1990).
- 20) Y. Imura, K. Takenouchi, M. Nakamura, S. Kawai, Y. Katayama & N. Morohoshi : in "Biotechnology in Pulp and Paper Industry", Uni Publishers, 1992, p. 427.
- 21) C.R. Perry, M. Smith, C.H. Britnell & D.A. Wood : *J. Gen. Microbiol.*, in press.
- 22) A. Munoz-Rivas, C.A. Specht, B.J. Drummond, E. Froeliger, C.P. Novotny & R.C. Ullrich : *Mol. Gen. Genet.*, **205**, 103 (1986).
- 23) M.H. Gold, T.M. Cheng & M.B. Mayfield : *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 996 (1982).
- 24) E.H. Froeliger, A.M. Munoz-Rivas, C.A. Specht, R.C. Ullrich & C.P. Novotny : *Curr. Gen.*, **12**, 547 (1987).
- 25) M. Alic, E.K. Clark, J.R. Kornegay & M.H. Gold : *Curr. Genet.*, **17**, 305 (1990).
- 26) L. Akileswaran, M. Alic, E.K. Clark, J.L. Hornick & M.H. Gold : *Curr. Genet.*, **23**, 351 (1993).
- 27) M. Alic, M.B. Mayfield, L. Akileswaran & M.H. Gold : *Curr. Genet.*, **19**, 491 (1991).
- 28) T. Randall, C.A. Reddy & K. Boominathan : *J. Bacteriol.*, **173**, 776 (1991).
- 29) M. Peng, M.K. Singh & P.A. Lemke : *Curr. Genet.*, **22**, 53 (1992).
- 30) Y. Katayose, S. Kajiura & K. Shishido : *Nucleic Acid Res.*, **18**, 1395 (1990).
- 31) Y. Yui, Y. Katayose & K. Shishido : *Biochem. Biophys. Acta*, **951**, 53 (1988).
- 32) A. Andrawis, E.A. Pease & M. Tien : in "Biotechnology in Pulp and Paper Manufacture", Butterworth-Heinemann, 1990, p. 601.
- 33) T.M. Johnson & J.K.-K. Li : *Arch. Biochem. Biophys.*, **291**, 371 (1991).
- 34) E.A. Pease, S.D. Aust & M. Tien : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **179**, 897 (1991).
- 35) K.G. Welinder & M. Gayhede : in "Plant Peroxidase : Biochemistry and Physiology", III International Symposium 1993, p.35; K.G. Welinder, J.M. Mauro & L. Norkov-Lauritsen : *Biochem. Soc. Trans.*, **20**, 337(1992).