

## キノコ科学研究所実績報告書（令和5年4月1日～令和6年3月31日）

令和6年5月24日

所長 平井 浩文

### 1. 研究概要

キノコとは、担子菌・子囊菌類が形成する大型の子実体を指し、一部のキノコは食品として流通している重要な農産物であるが、食品用途以外にも様々な重要な機能を有しており、本プロジェクト研究所では以下に示すキノコ研究を、各研究員が連携し包括的に推進する。

- (1) キノコの有する、新たな薬理成分や毒性成分など様々な生理活性成分の探索、その生合成経路の解明、薬品や農薬等への応用展開
- (2) 菌糸がもつ様々な有益な機能（木材分解、環境汚染物質分解、発酵など）のバイオリファイナリーやバイオレメディエーションへの応用を目指した研究
- (3) 森林などの生態系で分解者として重要なニッチを占めるキノコ類の、植物や細菌との生物間相互作用の解析
- (4) 本研究所で使用するキノコ及び優れた特性を持つキノコ類のゲノム情報基盤の整備

### 2. 令和5年度研究成果

- (1) キノコの有する、新たな薬理成分や毒性成分など様々な生理活性成分の探索、その生合成経路の解明、薬品や農薬等への応用展開

フェアリー化合物（fairy chemicals, FCs）、2-アザヒポキサンチン（AHX）、イミダゾール-4-カルボキサミド（ICA）、2-アザ-8-オキソヒポキサンチン（AOH）は、植物において多様な作用を持つ分子である。コムラサキシメジに8個存在するNO synthase

（NOS）の中で高発現していた組換え LsNOS2（rLsNOS2）、及び組換え LsNOS8（rLsNOS8）が産生するNOが5-aminoimidazole-4-carboxamide（AICA）に非酵素的に取り込まれ、AHXが生成することを既に報告している。L-Arg処理時に高発現するNOS遺伝子をリアルタイムPCRにより探索した結果、最も高発現していたLsNOS5遺伝子、及び哺乳類と類似したドメイン構造をもつLsNOS4遺伝子が大腸菌に異種発現させ *in vitro* 酵素活性試験を行い、rLsNOS5及びrLsNOS4が産生するNOがrLsNOS2、rLsNOS8と同様にAHXの窒素源となることを明らかにした。

冬虫夏草の1種であるサナギタケのレクチンの研究を行い、 $\beta$ -グルクロニダーゼを可溶化タグとして用いたリシンB型レクチン（CmRlec）の異種発現に成功した。さらに本レクチンが新規なキチン認識レクチンであることを明らかにし、Bioscience, Biotechnology, and Biochemistryに報告した。

(2) 菌系がもつ様々な有益な機能（木材分解、環境汚染物質分解、発酵など）のバイオリファイナリーやバイオレメディエーションへの応用を目指した研究

高活性リグニン分解菌 *Phanerochaete sordida* YK-624 株によるテトラブロモビスフェノール A (TBBPA) の分解を試みたところ、本菌により TBBPA は分解され、TBBPA が TBBPA 配糖体へと代謝されることを証明した。また本配糖体は、マウス神経芽細胞に対して毒性を示さなかった。さらに、本菌は TBBPA の様な嵩高い置換基を有する化合物に対しても配糖化可能な新規糖転移酵素を有していることを明らかにした。

(3) 森林などの生態系で分解者として重要なニッチを占めるキノコ類の、植物や細菌との生物間相互作用の解析

昨年度までに開発した、複数の「白色腐朽菌と自然界由来細菌叢からなる複合微生物系」から、二次複合微生物系を作出した。それらの各種木材腐朽関連活性（酵素活性・資化特性等）を経時的に調査したところ、一部の二次複合微生物系では培養初期にリグニン分解が大きく進み、培養後期には特に多糖分解が著しく抑制されていた。リグニン分解酵素活性とリグニン分解活性との間に相関が観察されず、リグニン分解酵素以外にリグニン分解に関与する要因が存在することが示唆されたと共に、培養初期と後期で大きく菌叢構造が変動していることが予測された。この二次複合微生物系の元となった複合微生物系から、成分組成の異なる寒天培地を用いて新たな二次複合微生物系を作出し、予備的にこれら二次複合微生物系の寒天培地上における菌叢構成解析を実施した結果、それぞれの菌叢構造が異なっていたため、各種二次複合微生物系の木材腐朽時における木材腐朽特性と菌叢構成解析に着手している。

(4) 本研究所で使用するキノコ及び優れた特性を持つキノコ類のゲノム情報基盤の整備

薬用として用いられるチャーガ (*Inonotus obliquus*) のゲノム配列を決定したほか、木材分解に関連する遺伝子数種を同定し、AMB Express に報告した。

### 3. 令和 5 年度研究業績

- 1) 小堀 一, 崔 宰熏, オオシロカラカサタケ子実体の人工栽培方法の開発, *日本きのこ学会誌*, 31, 123–125 (2024)
- 2) Mori, T., Sugimoto, S., T Ishii, S, Wu, J., Nakamura, A., Dohra, H., Nagai, K., Kawagishi, H., and Hirai, H., Biotransformation and detoxification of tetrabromobisphenol A by white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624, **J. Hazard. Mater.**, 465, 133469.
- 3) J. Wang, R. Yin, Y. Hashizume, Y. Todoroki, T. Mori, H. Kawagishi, H. Hirai (2023) Ergosterol and its metabolite induce ligninolytic activity in lignin degrading fungus *Phanerochaete sordida* YK-624, **Journal of Fungi**, 9, 951.

- 5) Fukaya, M., Nagamine, S., Ozaki, T., Liu, Y., Ozeki, M., Matsuyama, T., Miyamoto, K., Kawagishi, H., Uchiyama, M., Oikawa, H., and Minami, A., Total biosynthesis of melleolides from Basidiomycota fungi: mechanistic analysis of the multi-functional GMC oxidase Mld7, **Angew. Chem. Int. Ed.**, 62, e202308881 (2023)
- 6) Wu, J., Uchida, K., Yoshikawa, A., Hashimoto, M., Kondo, M., Nihei, K., Ishii, M., Choi, J-H., Miwa, Y., Shoda, C., Lee, D., Nakai, A., Kurihara, T., D'Alessandro-Gabazza, C. N., Toda, M., Yasuma, T., Gabazza, E. C. Hirai, H., and Kawagishi, H., "Fruiting Liquid" of Mushroom-Forming Fungi; Novel Source of Bioactive Compounds – Fruiting-Body Inducer, and HIF- and Axl- Inhibitor –, **J. Agric. Food. Chem.**, 71, 13338–13345 (2023)
- 7) Wu, J., Kamiishi, Y., Shimozaki, K., Kondo, M., Hashimoto, M., Choi, J-H., D'Alessandro-Gabazza, C. N., Toda, M., Yasuma, T., Gabazza, E. C., Hirai, H., and Kawagishi H., Novel cyclopropyl compounds, cyclopropylvirgines A to G, from the fruiting bodies of *Amanita virgineoides*, **Bull. Chem. Soc. Japan** 12, 596–607 (2023)
- 8) Mori, T., Terashima, T., Matsumura, M., Tsuruta, K., Dohra, H., Kawagishi, H., and Hirai, H., Construction of white-rot fungal–bacterial consortia with improved ligninolytic properties and stable bacterial community structure, **ISME Commun.** 3, 61 (2023)
- 9) Mori, T., Higashi, S., Kimura, H., Kawagishi, H., and Hirai, H., Effects on microstructures of decayed wood particles in spent mushroom substrates on the enzymatic saccharification and fermentation properties, **Biores. Technol. Rep.**, 22, 101494 (2023)
- 10) Mori, T., Takahashi, S., Soga, A., Arimoto, M., Kishikawa, R., Yama, Y., Dohra, H., Kawagishi, H., and Hirai, H., Aerobic H<sub>2</sub> production related to formate metabolism in white-rot fungi, **Front. Fungal Biol.** 4, 1201889 (2023)
- 11) Nezu I, Nueraihaimaiti N, Rini DS, Ishiguri F, Sato T, Mitsukuni K, Suzuki T, Habu N, Ohshima J, Yokota S. Clarifying the decay process by *Inonotus obliquus* in Japanese white birch naturally grown in Nikko, Japan. **Holzforschung**, 77, 585–597 (2023)
- 12) Agnestisia R, Suzuki T, Ono A, Nakamura L, Nezu I, Tanaka Y, Aiso H, Ishiguri F, Yokota S. Lignin-degrading enzymes from a pathogenic canker-rot fungus *Inonotus obliquus* strain IO-B2, **AMB Express**, 13, 59 (2023)
- 13) Ono A, Zhang J, Tanaka Y, Sato C, Yoda A, Ogata M, Nomura T, Suzuki T. Heterologous expression of the lectin CmRlec from *Cordyceps militaris* (Cordycipitaceae, Ascomycota) in *Escherichia coli*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 87, 555–562 (2023)

#### 4. 報道等

- 1) 河岸洋和・鈴木智大 スギヒラタケ急性脳症の解明が多くの新聞で紹介された。  
<https://www.shizuoka.ac.jp/news/detail.html?CN=9740>
- 2) 河岸洋和・呉静 「キノコの機能性成分」の論文が、アメリカ化学会誌発行の  
Chemical & Engineering News で紹介。<https://cen.acs.org/biological-chemistry/natural-products/Liquid-root-like-structures-make/101/web/2023/09>

#### 5. 競争的外部資金獲得状況（研究代表者のみ）

##### 5-1. 平井浩文

白色腐朽菌の環境汚染物質代謝能の意義解明及び汚染環境浄化への発展的応用、科研費・基盤研究 A、2021-2025.

白色腐朽菌の環境汚染物質代謝能の意義解明及び汚染環境浄化への発展的応用、科研費・挑戦的研究（萌芽）、2023-2025.

##### 5-2. 崔 宰熏

プリン代謝産物による植物由来アルギニン依存性一酸化窒素合成酵素の探索、科研費・挑戦的研究(萌芽)、2022-2024.

フェアリーリング病の発生機序に関わる化学分子機構の解明、科研費・基盤研究 B、2023-2026

フェアリー化合物の生合成・代謝メカニズムの解明、科研費・学術変革領域研究 A、2023-2024

##### 5-3. 森 智夫

細菌との相互作用を利用した新たな白色腐朽菌機能制御技術の開発、科研費・基盤研究 B、2023-2025

##### 5-4. 鈴木智大

冬虫夏草類の接着分子（レクチン）はその宿主域の決定に寄与するのか？、基盤研究 C、2024-2026.

##### 5-5. 河岸洋和

フェアリー化合物の科学とその応用展開、科研費・特別推進研究、2020-2025.

#### 6. 受賞

呉静：2024 年度日本農芸化学奨励賞