

キノコ科学研究所活動実績報告書

令和4年4月1日～令和5年3月31日

令和5年8月9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4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。FCs の生合成経路は、5-アミノイミダゾール-4-カルボキサミドから生合成される新規なプリン代謝である。我々は、プリンサルベージ酵素の一つであるヒポキサンチン・グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ

(HGPR) が、AHX と AOH を基質として認識することを明らかにした。AOH の誘導体である AOH リボヌクレオチドとそのリボヌクレオシドという 2 つの新規化合物を酵素合成した。質量分析、1次元および2次元 NMR スペクトル、X線単結晶回折を用いて構造を決定した。本報告は、イネにおける HGPR の機能と、FCs 生合成に関連した新規プリン代謝の存在を示すものである。

冬虫夏草の1種であるサナギタケのレクチンと呼ばれるタンパク質の研究を行い、サナギタケのレクチンが、①宿主である蚕の蛹の羽化を抑制する作用があること（冬虫夏草の感染に有利な状況を引き延ばす効果があること）②きのこ（子実体）の形成に関与することを明らかにし、学術雑誌 *International Journal of Biological Macromolecules*

に報告した。

急性脳症を引き起こす毒キノコであるスギヒラタケから、マウスに対して致死活性を示す新規のタンパク質（プレウロサイベリン：PC と命名）の精製に成功し、本 PC と、このスギヒラタケ由来のレクチン（PPL）が複合体を形成し、タンパク質分解活性を示すことを明らかにした。さらに、PC および PPL と、過去に神経細胞に毒性を示す化合物としてこのキノコから単離構造決定されたプレウロサイベルアジリジン（PA）の 3 つの混合によって、マウスの脳内に障害が起きることを明らかにし、学術雑誌 *Toxicon* に報告した。

様々な生理活性成分を探索する過程で、各種キノコ抽出物を様々なバイオアッセイに供し、活性のあったキノコから活性本体の精製、構造決定、作用機構の解明を行ってきた。その結果はシロオニタケ (*Amanita virgineoides*) 及び *Lepista luscina* から抗がん剤に展開可能な受容体型チロシンキナーゼ (Axl) 阻害物質及び免疫チェックポイント (PD-L1, PD-L2) 阻害物質、あるいは低酸素因子 (hypoxia-inducible factor : HIF) 阻害物質の単離に成功した。特に、シロオニタケから天然物としては珍しいラセミ体のシクロプロパンを持つ化合物が見出されました。また、ヒメマツタケ (*Agaricus blazei*) 及びニガクリタケ (*Hypholoma fascicular*) から抗菌活性物質を発見した。フェアリング形成菌の一つであるオオシロカラカサタケ (*Chlorophyllum molybdites*) から単離した化合物は Axl, PD-L1 及び PD-L2 阻害活性、植物成長調節活性及び抗菌活性を示した。

一方、多くの生物種は特有のホルモンを有している。しかし、キノコにおけるホルモンは明らかにされていない。我々は歴史上初めて「キノコホルモン」の発見を目指している。菌類が子実体を発生させる直前に液体を分泌する。この現象はキノコに共通であるが、液体が分泌される意味や役割を誰も注目していなかった。我々は、この液体が子実体形成に深く関与していると考え、fruiting liquid (FL) と命名した。キノコ栽培業者の協力で各種 FL を大量（栽培ポット数千個分）に入手した。その結果、クリタケ (*Hypholoma lateritium*) FL 及びヤマブシタケ (*Hericium erinaceus*) FL から子実体形成誘導物質（キノコホルモン候補）を発見した。FL 中の 2 次代謝産物の発見は今回が世界で初めてである。

(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

水素は、主に嫌気性条件下で嫌気性細菌、嫌気性菌類、藻類によって産生される。高等真核生物では、水素分子はストレス応答などの生理的プロセスのシグナル伝達分子として機能していると考えられている。本検討では、白色腐朽菌が木材を腐朽させる際に H₂ を生成することを明らかにした。白色腐朽菌 *Trametes versicolor* K-41 株は好气的条件下で木材から H₂ を生産し、低酸素条件下では H₂ 生産は完全に抑制された。さらに、

木材培養にシュウ酸塩とギ酸塩を添加すると、 H_2 生成レベルが増加した。RNA-seq 解析の結果、水素産生時には TCA/グリオキシル酸サイクルからのシュウ酸産生経路はダウンレギュレートされ、逆にシュウ酸およびギ酸代謝酵素をコードする遺伝子はアップレギュレートされていた。ヒドロゲナーゼとアノテーションされた遺伝子の H_2 産生への関与は不明であったが、有機酸補給、遺伝子発現、および自己組換え実験の結果は、この菌による H_2 産生のメカニズムにギ酸代謝が関与していることを強く示唆していた。白色腐朽菌による木材バイオマスからの好氣的 H_2 生産は、これまでにない新規な発見である。

(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

木材腐朽菌は共存する細菌群集の影響を受けて木材腐朽活性を変化させると考えられているが、細菌群集の構造は非常に不安定で容易に変化するため、真菌-細菌コンソーシアムにおける相互作用機構を実験的に解明することは困難である。実際、白色腐朽菌 *Phanerochaete sordida* YK-624 と天然細菌群集から構成されるコンソーシアムの木材腐朽特性は、木材上での数回の継代培養によって劇的に変化した。そこで、菌群構造や菌の表現型が安定する継代培養法の開発を試みた。寒天培地を用いた方法では、数十回の継代培養を繰り返しても、木材腐朽に関連する菌類表現型と菌類群集を維持することができた。遺伝子予測に基づいて同定されたいくつかの細菌代謝経路を、*P. sordida* と細菌の木材腐朽関連相互作用に関与する候補としてスクリーニングした。特に、プレニルナフトキノン生合成に関連する経路は、ナフトキノン誘導体がフェノール酸化活性を誘導することから、コンソーシアムによる高いリグニン分解選択性を促進する相互作用に関与している事が予測された。

(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
芝などを枯死・繁茂させるフェアリーリングを形成するキノコであるコムラサキシメジ (*Lepista sordida*) および優れた木材腐朽特性を持つ白色腐朽菌ウスキイロカワタケ (*Phanerochaete sordida*) の完全長ミトコンドリアゲノム配列を決定し、14 個の保存性の高いタンパク質のアミノ酸配列を用いて分子系統解析を行った。どちらのキノコも分類学的に不明な点も多く、これらの情報は、キノコの分類学的な問題に新たな手がかりを提供するだけでなく、フェアリーリング形成能や木材腐朽特性とキノコの系統関係との関連性についての新たな知見につながると考えられる。

3. 令和 4 年度研究業績

- 1) Y. Tanaka, I. Nezu, H. Aiso, T. Fujie, N. Konno, T. Suzuki, F. Ishiguri, N. Habu (2023) Pectin decomposition at the early stage of brown-rot decay by *Fomitopsis*

- palustris*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **87**, 555-562.
- 2) H. Takemura, J-H. Choi, K. Fushimi, R. Narikawa, J. Wu, M. Kondo, D.C. Nelson, T. Suzuki, H. Ouchi, M. Inai, H. Hirai, H. Kawagishi (2023) Role of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase in the metabolism of fairy chemicals in rice, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **21**, 2556.
 - 3) J. Wu, T. Ohura, R. Ogura, J. Wang, J-H. Choi, H. Kobori, C. N. D'Alessandro-Gabazza, M. Toda, T. Yasuma, E. C. Gabazza, Y. Takikawa, H. Hirai, H. Kawagishi (2023) Bioactive Compounds from the Mushroom-Forming Fungus *Chlorophyllum molybdites*, *Antibiotics*, **12**, 596.
 - 4) M. Kotajima, J-H. Choi, T. Suzuki, J. Wu, H. Hirai, D.C. Nelson, H. Ouchi, M. Inai, H. Dohra, H. Kawagishi (2023) The role of xanthine dioxygenase in the biosynthetic pathway of 2-aza-8-oxohypoxanthine of *Lepista sordida*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **87**, 420-425.
 - 5) J. Wang, R. Yin, Y. Liu, B. Wang, N. Wang, P. Xiao, T. Xiao, H. Hirai (2023) Meta-analysis of neonicotinoid insecticides in global surface waters, *Environmental Science and Pollution Research*, **30**, 1039-1047.
 - 6) T. Suzuki, T. Asakawa, F. Maekawa, E. Kimura, Y. Tezuka, L. Nakamura, T. Sato, Y. Arai, J-H. Choi, M. Suzuki, H. Dohra, H. Hirai, H. Kawagishi (2023) Possible molecular mechanism for acute encephalopathy by angel-wing mushroom ingestion - Involvement of three constituents in onset, *Toxicon*, **221**, 106958.
 - 7) M. Kotajima, J-H. Choi, M. Kondo, C. N. D'Alessandro-Gabazza, M. Toda, T. Yasuma, E. C. Gabazza, Y. Miwa, C. Shoda, D. Lee, A. Nakai, T. Kurihara, J. Wu, H. Hirai, H. Kawagishi (2022) Axl, immune checkpoint molecules and HIF inhibitors from the culture broth of *Lepista luscina*, *Molecules*, **27**, 8925.
 - 8) T. Mori, H. Dohra, H. Kawagishi, H. Hirai (2022) The complete mitochondrial genome of the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624, *Mitochondrial DNA Part B: Resources*, **7**, 1743-1745.
 - 9) R. Yin, X. Zhang, B. Wang, J. Jia, N. Wang, C. Xie, P. Su, P. Xiao, J. Wang, T. Xiao, B. Yan, H. Hirai (2022) Biotransformation of bisphenol F by white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624 under non-ligninolytic condition, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **106**, 6277-6287.
 - 10) J. Wang, J. Wu, R. Ogura, H. Kobori, J-H. Choi, H. Hirai, Y. Takikawa, H. Kawagishi (2022) Anti-phytopathogenic-bacterial fatty acids from the mycelia of the edible mushroom *Agaricus blazei*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **86**, 1327-1332.
 - 11) B. Wang, J. Wang, R. Yin, X. Zhang, Z. Zeng, G. Zhang, N. Wang, H. Hirai, T. Xiao

- (2022) RNA sequencing analysis of bisphenol A biodegradation by white rot fungus *Phanerochaete sordida* YK 624, *3 Biotech*, **12**, 225.
- 12) A. Ono, T. Suzuki, Y. Takeshima, T. Kashiwa, T. Motoyama, J-H. Choi, C. Sato, N. Konno, H. Miyakawa, M. Ogata, H. Hirai, H. Dohra, H. Osada, H. Kawagishi (2022) CmLec4, a lectin from the fungus *Cordyceps militaris*, controls host infection and fruiting body formation, *International Journal of Biological Macromolecules*, **215**, 303-311.
- 13) J. Wang, J. Wu, K. Tsutsumi, J-H. Choi, H. Hirai, H. Kobori, Y. Takikawa, H. Kawagishi (2022) A new lanostane triterpenoid from the mushroom *Hypholoma fasciculare*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **86**, 819-823.
- 14) J. Wang, J. Wu, Y. Ogura, H. Kobori, J-H. Choi, H. Hirai, Y. Takikawa, H. Kawagishi, (2022) Anti-phytopathogenic bacterial fatty acids from the mycelia of the edible mushroom *Agaricus blazei*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **86**, 1327-1332.
- 15) J-H. Choi, T. Suzuki, A. Ono, M. Kotajima, Y. Tanaka, T. Suzuki, H. Kawagishi, H. Dohra (2022) The complete mitochondrial genome sequence of the fairy ring-forming fungus *Lepista sordida*. *Mitochondrial DNA B Resour.*, **7**, 712-714.

4. 報道等

- 1) 「化粧品原料の量産化目指す キノコ栽培の岩出菌学研究所 菌糸体培養技術を活用 23年めどに製品化へ」、中部経済新聞社、2022年6月22日
- 2) 「静大発・世界初の化粧品原料「レピスタ®」誕生 一皮膚バリア機能を改善するエイジングケア成分」、静岡大学のプレスリリース、2022年9月
- 3) 「スギヒラタケによる脳症 3物質が関与して発症 静岡大、宇都宮大など解明」科学新聞、2022年12月2日
- 4) 「静岡大学和宇都宮大学发现：貝形圆孢侧耳导致的脑病与三物质有关」、JST 中国語版サイト「客観日本」、2023年1月11日
- 5) 「Encephalopathy due to the Sugihiratake mushroom - Shizuoka University and Utsunomiya University clarify that onset caused by three substances」、JST 英語版サイト「Science Japan」、2023年1月17日

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、2021-2024.

5-2. 道羅英夫

冬虫夏草類の子実体形成と二次代謝を制御する分子機構の解明、科研費・基盤研究 C、
2021-2023

5-3. 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.

5-4. 森 智夫

白色腐朽菌－細菌複合微生物系における高リグニン分解能を誘導する相互作用機構の解
明、科研費・基盤研究 B、2020-2022

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、2020-2024.

5-6. 呉 静

高等菌類におけるホルモンの解明、JST ACT-X、2021-2023.