

第2回（2022年度）リグニン学会奨励賞  
中沢 威人（京都大学大学院農学研究科）  
「白色腐朽菌ヒラタケによるリグニン分解の分子遺伝学研究」

The Lignin Society Progress Award for 2022

Takehito NAKAZAWA

Graduate School of Agriculture, Kyoto University

Molecular genetics studies on lignin degradation by the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*

2006年3月東京工業大学生命理工学部生命科学科卒業，2008年3月東京工業大学大学院生命理工学研究科分子生命科学専攻修士課程修了，2009年3月東京工業大学大学院生命理工学研究科分子生命科学専攻博士課程修了，2009年4月日本学術振興会特別研究員PD（岡山大学），2011年4月静岡県立大学大学院薬学研究科特任助教，2013年7月京都大学大学院農学研究科助教



### 研究の概要

白色腐朽菌による木材中のリグニン分解は、幅広い研究分野で基礎・応用の両面から興味を惹く現象である。そのため、様々なアプローチから長年研究が行われてきた。しかし、未だにリグニン分解機構には不明な点（明確にされていない点）が多い。本研究では、これまでほとんど行われてこなかった菌類分子遺伝学からアプローチし、リグニン分解機構の解明に取り組んだ。

本研究で用いた白色腐朽菌は、交配可能なモノカリオン2株のゲノム情報が利用可能であり、高頻度相同組換えによる“狙った”遺伝子改変が可能なヒラタケである (Salame *et al.*, 2012 *Appl. Environ. Microbiol.*)。まず、本研究を開始するにあたり、新たな形質転換マーカーおよびマーカーリサイクル法を開発し、単独だけでなく多重遺伝子改変を可能にした<sup>1)</sup>。続いて、リグニン分解に重要な遺伝子を同定する目的で、ヒラタケのリグニン分解能と相関を示す色素（Orange IIおよびRemazol Brilliant Blue R）脱色能を失ったUV変異株を取得した。F<sub>1</sub>子孫を用いた古典的な遺伝解析と、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を組み合わせた新旧融合的な手法を考案し、効率的に原因遺伝子変異を同定した<sup>2,4</sup>など。これらの変異株のほとんどでは、ブナ木粉培地中のリグニン分解能もほぼ喪失していた。比較トランスクリプトーム解析を行なったところ、全ての変異株におけるリグニン分解系酵素遺伝子群の転写不活性化が観察された<sup>4,5</sup>など。リグニン分解酵素遺伝子の単独破壊株では、ヒラタケのリグニン分解能がほとんど低下しなかった報告 (Salame *et al.*, 2013 *Appl. Environ. Microbiol.*) を踏まえると、これらの変異株ではリグニン分解系酵素遺伝子“群”が一挙に不活性化された結果、リグニン分解不全になった可能性が考えられる。

最後に、本研究にご協力頂いた先生方ならびに学生達に心から感謝申し上げます。

- 1) Nakazawa, T. *et al.*, Marker recycling via 5-fluoroorotic acid and 5-fluorocytosine counter-selection in the white-rot agaricomycete *Pleurotus ostreatus*. *Fungal Biology*, **120**, 1146–1155 (2016).
- 2) Nakazawa, T. *et al.*, Identification of two mutations that cause defects in the ligninolytic system through an efficient forward genetics in the white-rot agaricomycete *Pleurotus ostreatus*. *Environmental Microbiology*, **19**, 261–272 (2017).
- 3) Nakazawa, T., *et al.*, Effects of *pex1* disruption on wood lignin biodegradation, fruiting development and the assimilation of carbon sources in the white-rot Agaricomycete *Pleurotus ostreatus* and non-wood decaying *Coprinopsis cinerea*. *Fungal Genetics and Biology*, **109**, 7–15 (2017).
- 4) Wu H. *et al.*, Targeted disruption of *hir1* alters the transcriptional expression pattern of putative lignocellulolytic genes in the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Fungal Genetics and Biology*, **147**, 103507 (2021).
- 5) Wu H. *et al.*, Transcriptional shifts in delignification-defective mutants of the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *FEBS Letters*, **594**, 3182–3199 (2020).