

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

平成 27 年度～平成 29 年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」 研究成果報告書概要

- 1 学校法人名 近畿大学 2 大学名 近畿大学
- 3 研究組織名 近畿大学農学部
- 4 プロジェクト所在地 奈良市中町 3327-204
- 5 研究プロジェクト名 きのこの子実体形成機構の解明とそのマツタケ等有用食用きのこの類の人工栽培化技術確立への応用を目指した研究基盤形成
- 6 研究観点 大学の特色を活かした研究

7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
白坂 憲章	農学部応用生命化学科	教授

- 8 プロジェクト参加研究者数 9 名

- 9 該当審査区分 理工・情報 生物・医歯 人文・社会

10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
白坂憲章	農学部・教授	マツタケ等有用新規食用きのこの栽培法開発	マツタケ等有用新規食用きのこの栽培化技術の確立：生化学的アプローチ
種坂英次	農学部・教授	マツタケ等有用新規食用きのこの栽培法開発	マツタケ等有用新規食用きのこの栽培化技術の確立：生態学的アプローチ
岸本憲明	農学部・教授	きのこ類微生物の全ゲノム配列の決定	きのこ類微生物のゲノムデータベースの構築
森 美穂	農学部・准教授	子実体形成機構解明に向けた遺伝子発現動態解析	きのこ類微生物のゲノムデータベースの構築
福田泰久	農学部・講師	子実体形成機構解明に向けたきのこ類微生物のプロテオーム解析	きのこ類微生物のタンパク質データベースの構築
倉田淳志	農学部・准教授	きのこ類微生物の全ゲノム配列の決定	きのこ類微生物のゲノムデータベースの構築
澤畠拓夫	農学部・准教授	マツタケ等有用きのこ菌株の新規分離	有用きのこ類の新規ライブラリー化
大石卓史	農学部・准教授	きのこのブランディングおよびマーケティング戦略	栽培食用きのこのマーケティング戦略の確立
財満信宏	農学部・准教授	きのこに含有される有用成分の分析	栽培食用きのこのマーケティング戦略の確立

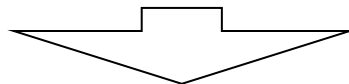
法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割

(変更の時期:平成 年 月 日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割

11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

(1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

1980年代において、日本のきのこの栽培技術は大学から民間の企業へと発信され、大学の研究者が牽引し成長を遂げた分野であったが、それらの技術はシイタケやマッシュルームなど古くから栽培が可能であったきのこの栽培を行ってきた歴史の中で経験的に蓄積されたノウハウを体系的にまとめたものであり、なぜ、どうやって“きのこ”ができるかといった重要な問題はいまだ解決できていない。すなわち、きのこの栽培技術は経験的なノウハウに頼った方法がほとんどであり、同様の発想でこれまで人工栽培が成功していないマツタケを従来通りのアプローチで栽培化するのは困難であると思われる。

本プロジェクトでは、マツタケなど有用食用きのこの類の人工栽培化という課題に立ち向かうためのアプローチとして、きのこの類微生物がどのようにして“きのこ”を作るのかという長い間不明であった問題に取り組み、その研究によって得られた知見を応用して従来の経験的なノウハウに頼らない科学的な裏付けを基礎とした新たなきのこ栽培法を開発しマツタケの人工栽培法の確立を目指した。そのために、現在、断片的にしか存在しないきのこの類微生物のゲノム情報やタンパク質アミノ酸配列情報などのデータベースをエノキタケ、ブナシメジ、エリンギをはじめとする栽培技術及び学術的な知見がある程度蓄積しているきのこや、マツタケと同じ菌根菌で唯一人工栽培が可能となっているホンシメジなどについて構築することが必要である。また、民間企業が自社において栽培のノウハウを開発・発展させるに従い、時代に合わないものとなってきた大学が有する栽培に関する施設や技術を現状に合ったものに更新することにより、大学の持つきのこの類微生物に関する研究開発力を社会に発信し、きのこの栽培へと応用することができるようになると考えられる。また、同時に本プロジェクトで導入する解析機器や栽培施設は、現在のきのこの類微生物の研究分野において最新のものであり、導入後は本学が当該分野の最新データを蓄積・発信するきのこの研究の拠点となると考えられる。その結果として、何よりもマツタケというこれまでに多くの人々が人工栽培に挑戦して成しえなかったきのこの栽培技術を最新の科学によって実現することは、産業的にも科学技術的にも有意義なことであるとともに、同様に栽培化が困難なトリュフやポルチーニといった高付加価値の食用きのこの栽培化技術確立にも寄与できると考えられる。さらに、本プロジェクトでは栽培化技術を確立した新しい栽培したきのこの消費者ニーズを調査し、適正な価格で流通するためのビジネスモデルについても検討することで、きのこの産業の継続的な活性化につなげていくための検討にも取り組んだ。

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

(2) 研究組織

上記の目的を達成するために、相互に関連する 3 つのグループ、①栽培検証・研究用きのこ株供給グループ、②遺伝子・タンパク質解析グループ、③ビジネスモデルグループ、を設定し、それぞれのグループに関連する分野の研究者を配置した。栽培検証・研究用きのこ株供給グループには、種坂教授(栽培施設の維持・管理・運用を担当)、白坂教授(マツタケ等有用新規食用きのこの栽培化技術の確立を担当)、澤島准教授(有用きのこの類の新規ライブラリ化を担)の 3 名、遺伝子・タンパク質解析グループには、きのこ類微生物のゲノムデータベースの構築を担当する岸本教授、倉田准教授、森准教授ときのこ類微生物のタンパク質データベース構築および遺伝子組換え系の開発を担当する福田講師の 4 名、ビジネスモデルグループには大石准教授(きのこのマーケティング担当)、財満准教授(きのこに含有される有用成分の分析担当)の 2 名が配置された。各グループ内において適宜担当者同士の小規模な打ち合わせを、研究代表者(白坂)を交えて行いながら研究を実施した。また、研究代表者はこれら 3 つのグループの研究の進行を統括した。

このプロジェクトに関わった人員ののべ人数は 3 年間で、定時職員 4 名、実験補助(院生)8 名であった。内訳は栽培検証・研究用きのこ株供給グループで定時職員 2 名、実験補助(院生)2 名、遺伝子・タンパク質解析グループで定時職員 2 名、実験補助(院生)5 名、ビジネスモデルグループで PD1 名であった。

本プロジェクトにおいては各研究グループの研究をシームレスに進めるため、以下のような研究グループ間の連携関係を研究代表者を中心として構築した。①遺伝子・タンパク質解析グループの実験に用いるきのこを栽培検証・研究用きのこ株供給グループにより供給する。②遺伝子・タンパク質解析グループで作出した遺伝子組み換え株の栽培検証を栽培検証・研究用きのこ株供給グループで行う。③ビジネスモデルグループにおいて明らかとなったきのこ由来の機能性成分を強化したきのこ栽培を栽培検証グループでおこなう。

(3) 研究施設・設備等

研究施設として、平成 27 年度にきのこ栽培施設(196mm²)を設置し、施設の核となる栽培装置を研究装置として導入した。本施設・装置は連続的に新規きのこの栽培検証、研究用きのこの供給のための栽培に利用されており、栽培検証・研究用きのこ株供給グループの研究者(種坂・白坂)が属する研究室の 35 名が年間を通じて断続的に利用し(8760 時間/年)、月当たり約 60 床(栽培ポット、菌床ブロック合算)、年間総量として 750 床程度の栽培を行った。

一方、研究設備として、平成 27 年度に次の以下の件の機器を導入した。①次世代ゲノムシーケンサー(きのこ類微生物の全ゲノム配列および発現遺伝子の網羅的な解析を行う機器)、②MALDI-TOF/MS(きのこ類微生物のタンパク質データベースの構築および機能性成分の質量顕微鏡解析をおこなう機器)、③プロテインシーケンサー(タンパク質の N 末端アミノ酸配列を決定する機器)。それぞれの機器は、現在、農学部 4319 室に設置されており、本プロジェクトの解析拠点として、各研究グループ間の有機的な連携を図りながら利用されている。①の次世代ゲノムシーケンサーののべ使用回数は 13 回/年、使用時間は 360 時間/年であった。②の MALDI-TOF/MS ののべ使用回数は 252 回(タンパク質解析 217 回、質量顕微鏡解析 35 回)/年、使用時間は 5760 時間/年であった。③のプロテインシーケンサーののべ使用回数は 120 回/年、使用時間は 1440 時間/年であった。これらの機器は本プロジェクトの遂行のために効果的に運用されてきた。

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

(4) 研究成果の概要 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び*を付すこと。

栽培検証・研究用きのこ株供給グループ:

マツタケの栽培化や子実体形成機構の解明など、本プロジェクトにおいては“きのこ栽培”が根幹的な技術として必要であることは明らかである。本課題においては、導入したきのこ栽培施設を運用することにより、これまで大学ではできないといわれていた「きのこを安定的に栽培できる環境」を運用するシステムを構築することが出来た。また、本施設を運用することで研究に利用するきのこの安定的に供給できる体制を確立したとともに、新規に分離したきのこ株の栽培検討を行える環境を整えた。その結果として、マツタケを含む様々な栽培を検討するための基礎的な環境を整えることが出来たといえる。

また、研究に使用する菌株ライブラリの充実という点からは、新たなマツタケ菌株の取得のみならず、アミガサタケ、ショウロ、ホンシメジ、シャカシメジといった新たに栽培化検討を行うための菌株や、*¹子実体形成能を有するトキイロヒラタケ単核株を分離することに成功した。

さらに、マツタケの栽培化に関しては、固体培養において菌糸量を数値化できる手法を新たに開発するとともに、大麦を栄養体とする固体培地を用いることで従来よりも高密度の菌糸の蔓延を短期間で達成できる培養方法を確立できた。

遺伝子・タンパク質解析グループ: *²マツタケ、*³ブナシメジ、*⁴エノキタケ、*⁵トキイロヒラタケなど、これまでにデータベースがなかった全ゲノム情報や発現遺伝子情報などを DDBJ などの公的なデータベースに登録した。

新たに構築したデータベースを利用して、きのこ類微生物のタンパク質をマスペクトル分析のデータから同定するためのスキームを確立し、*⁶マツタケのグルコアミラーゼ、*⁷ブナシメジのアミノペプチダーゼ、*⁸トキイロヒラタケの色素タンパクなどの同定を行うことが出来た。

トキイロヒラタケ孢子由来の単核体全ゲノムデータを詳細に解析し、比較することによって、*⁹各単核株間において、保存される SNPs のような小さな変異ではなく、領域ごと遺伝子が欠損するなど現象が認められることが明らかとなった。

さらに、単核体で子実体を形成する能力を持つトキイロヒラタケ単核体を取得するとともに、*¹⁰単核体を用いた異種遺伝子の導入及び発現の手法を確立できた。

ビジネスモデルグループ: *¹¹人工栽培されたマツタケに潜在的なニーズが一定以上あることが確認でき、人工栽培に成功した後は比較的高い価格帯でも購買層が存在する可能性が示された。また、*¹²きのこに含まれる脂質代謝および骨代謝に関わる機能性成分としてシリンガ酸が同定されるとともに、*¹³こういった機能性に関して消費者がある程度関心を示す傾向が明らかとなった。

全体的な達成度については、①栽培検証グループにおいて、導入された栽培施設において安定的にきのこが栽培できるようになり、本プロジェクトの根幹である技術を確立することができ、これまで大学において実現できていなかった、きのこ研究の基礎的な環境を整えることが出来たこと、②これまで高密度の菌糸を培養で得ることが出来なかったマツタケにおいて、菌糸体密度の高い菌床を調製できる条件を確立でき人工栽培への道筋をつけることができたこと、③単核体で子実体を形成できるトキイロヒラタケの研究株を取得し、形質転換による異種遺伝子の導入方法を開発できたこと、④アンケート調査の結果、人工栽培マツタケや機能性強化きのこには一定のニーズがあり、取り組むべき課題であることが明らかになったことから、きのこの研究を進めるための研究基盤を形成することが出来た。しかし、マツタケの子実体を形成させるところまでは達成できず、子実体形成機構の解明のための遺伝子破壊のターゲティング手法の確立には至らなかったため、全体としての達成度は 85%程度であると判断した。

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

<優れた成果が上がった点>

栽培検証・研究用きのこ株供給グループ: 導入したきのこ栽培施設を運用し、きのこを栽培できる環境を構築できたことにより、これまで大学では不可能とされてきた栽培条件の詳細な検討が可能になった。この成果により、研究に利用するきのこの供給および新規に分離したきのこ株の栽培検討を行えるだけでなく、マツタケなどこれまで栽培方法が明らかになっていないきのこの栽培条件を検討できる環境を整えることが出来た。また、固体培養におけるマツタケの菌糸体量を測定する方法を開発したことにより、これまで、評価できなかった固体培地での菌糸成長を評価できるようになった。その結果、従来よりも高密度に菌糸が蔓延した菌床を短期間で調製できる技術を確立し検証することが可能となった。

遺伝子・タンパク質解析グループ: ^{*2}マツタケ、^{*3}ブナシメジ、^{*4}エノキタケ、^{*5}トキイロヒラタケなど、これまでにデータベースがなかった食用きのこの全ゲノム情報や発現遺伝子情報などをDDBJなどの公的なデータベースに登録し、利用できるようにした。また、^{*1}トキイロヒラタケ胞子由来の単核体より子実体形成能を有する単核株を取得したことにより、遺伝子破壊の影響を従来より簡便に確認できる実験系を確立できた。また、^{*9}胞子由来の単核体同士的全ゲノム情報の比較から、領域単位での遺伝子の欠損が認められることを明らかにした。さらに、^{*10}トキイロヒラタケ単核体を用いた異種遺伝子の導入及び発現法を確立した。

ビジネスモデルグループ: ^{*11}人工栽培されたマツタケに潜在的なニーズが一定以上あることが確認でき、人工栽培に成功した後は比較的高い価格帯でも購買層が存在する可能性を明らかにした。また、^{*12}きのこに含まれる脂質代謝および骨代謝に関わる機能性成分としてシリンガ酸が同定されたとともに、^{*13}こういった機能性に関して消費者がある程度関心を示す傾向を明らかにした。

<課題となった点>

栽培検証・研究用きのこ株供給グループ: 新たに設置したきのこ栽培施設を運用するうえで、運用1年目において多くの技術的問題が発生した。特にきのこの栽培に使用する栽培試験室は理化学機器である通常の恒温恒湿室とは温度・湿度の調整原理が異なるため、季節ごとも管理方法が異なり、同じ設定できのこの発生ができない状況が頻発したが、こまめな状況チェックと条件の調整によって、この問題を克服できた。また、固体培地を用いることで従来よりも高密度の菌糸の蔓延を目視では確認できる菌床を調製することに成功したものの、従来の方法と比べてどの程度改善できたかについて定量的な検討が出来ないという問題があったが、固体培地での菌糸体量測定法を開発することにより、この問題を克服できた。

遺伝子・タンパク質解析グループ: マツタケ、ブナシメジ、エノキタケ、トキイロヒラタケなど、これまでにデータベースがなかった全ゲノム情報や発現遺伝子情報などのデータベース登録を開始したが、情報量が多く、解析は終了しているが未登録のデータがまだ多く残っているため、今後も継続的に登録を進めていく必要がある。また、トキイロヒラタケ単核体を用いた異種遺伝子の導入及び発現法を確立できたものの、遺伝子破壊のターゲティングが可能な実験株の取得には至っておらず、今後も継続的に検討を進めていく必要がある。

ビジネスモデルグループ: 人工栽培されたマツタケに潜在的なニーズが一定以上あることは示されたが、消費者がマツタケのどういった品質に重きを置いているかについての解析は不十分であったため、品質水準(香り、食味等)の検討や、人工栽培マツタケの効果的なマーケティング戦略の検討などを進めていくことが重要である。また、きのこの機能性に期待するに消費者像を特定していくとともに、機能性食品・農産物の認知度を増加させていくためのマーケティング戦略を検討していく必要がある。

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

<自己評価の実施結果と対応状況>

プロジェクトメンバーが研究の進捗状況の評価しあうために、平成 28 年 3 月 12 日(土)、平成 29 年 3 月 28 日(火)、そして最終回として平成 30 年 3 月 27 日(火)に近畿大学農学部 311 教室にて研究成果報告会を開催した。このような報告会の後、研究グループごとのミーティングが開催され、プロジェクト代表(白坂)との協議を経て、次年度における研究内容および予算執行について決定した。

<外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

京都菌類研究所・所長の山中勝次博士、鳥取大学農学部菌類きのこ遺伝資源センターの霜村典宏教授、京都大学大学院農学研究科の田中千尋教授に、本プロジェクトの研究成果について外部からの評価を依頼し、プロジェクト発足時、年度末成果報告会、最終成果報告会にて進捗状況の評価していただいた。成果報告会等での外部評価委員の意見を参考に次年度のプロジェクトの実施と予算執行の方針を決定した。また、最終成果報告会での成果報告を受けてプロジェクト全体に対して別添えのような評価を得ている(添付書類1、添付書類2、添付書類3)

<研究期間終了後の展望>

栽培検証・研究用きのこ株供給グループ: 継続的に新規の菌株、特にマツタケの菌株を分譲株・分離株問わず国内外から収集し、栽培に適した菌株の取得を目指していく。また、マツタケの菌床については、現状の 2.5kg サイズからのさらなるスケールアップについて検討し、最終的にはこれまでに移植シロ土壌を用いた子実体発生報告がある 30kg スケールの菌床作成を実現する。並行して、現状の菌床(2.5kg)に対しても子実体形成誘導に必要な刺激(温度、栄養、化合物など)についての検討を進めていく。

遺伝子・タンパク質解析グループ: すでに解析は終了しているが、データベース登録が完了していないバカマツタケ、ホンシメジタケ、マイタケ、タモギタケなどの全ゲノム情報の登録を継続して行っていく。また、さらなるゲノムデータベースの充実を進めることにより、PMF によるきのこ類微生物由来のタンパク質同定の精度を向上させていく。さらに、ゲノム編集などの手法を用いて、トキイロヒラタケ単核体ゲノム中の非相同末端結合(NHEJ)関連遺伝子(Ku70、Ku80、lig4 など)をノックアウトした株を取得し、遺伝子破壊のターゲティングが可能な実験株の作成を進めていく。

ビジネスモデルグループ: 人工栽培マツタケにおいては、香り、食味といった求められる品質の検討を行うとともに、効果的なマーケティング戦略を検討していく。また同時に、既存のマツタケ産地や市場流通への影響についても検証していく。

きのこの機能性とマーケティング戦略については、きのこの機能性を評価する消費者像を特定していくとともに、機能性のPR方法等を検討し、販売促進のための機能性の取り扱い方策についても検討を進める。

<研究成果の副次的効果>

本プロジェクトにおいて導入した栽培施設は、現状で日本有数の栽培施設であり、特に大学において同等のきのこ栽培ができる環境を運用できる大学は国内にはないといつてよい。また、次世代ゲノムシーケンサーやタンパク質データベース検索機能を有するMALDI-TOF/MSなどの分析機器類をきのこ類微生物の研究に用いているケースは少ないことより、きのこ類微生物の研究における国内共同利用の環境を整備することが出来た。この

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

成果により、今後きのこ類微生物のデータベース整備などの事業を推進することが出来るとともに、当該分野における国内外の研究拠点となりうる。

また、ビジネスモデルグループの研究において、新たにきのこに含まれるシリング酸の機能が明らかになったが、本研究成果はすでに特許を申請している。

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- (1) マツタケ (2) 人工栽培きのこ (3) 子実体形成機構
 (4) 全ゲノム解析 (5) ゲノムデータベース (6) きのこの形質転換
 (7) タンパク質同定 (8) きのこのマーケティング

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには*を付すこと。

<雑誌論文>

栽培・研究用きのこ供給 G

1. *Phylloporia lonicerae* (Hymenochaetales, Basidiomycota), a new species on *Lonicera japonica* from Japan and an identification key to worldwide species of *Phylloporia*.; W.M. Qin, X.W. Wang, T. Sawahata, L. Zhou; MycoKeys 30:17-30 (2018)

遺伝子・タンパク質解析 G

1. Taxonomy of actinomycetes in the deep-sea Calyptogena communities and the antibacterial compound produced by *Actinomadura* sp. DS-MS-114, Biotechnology & Biotechnological Equipment, (2017) 31:5, 1000-1006.; Kurata A, Minamino S, Sugiura M, Kokoda K, Tsujimoto H, Numata T, Kato C, Nakasone K, Kishimoto N.
2. Degradation of ionic liquids by UV/H₂O₂ process and CMCase from novel ionic liquid-tolerant alkaliphilic *Nocardiosis* sp. SSC4, Biotechnology & Biotechnological Equipment, (2017) 31:4, 749-755.; Kurata A, Shimizu S, Shiraishi Y, Abe M, Naito N, Shimada M, Kishimoto N.
3. Antifungal peptidic compound from the deep-sea bacterium *Aneurinibacillus* sp. YR247. World Journal of Microbiology and Biotechnology, (2017) 33:73, 1-8.; Kurata A, Yamaura Y, Tanaka T, Kato C, Nakasone K, Kishimoto N.
4. *⁴ Draft Genome Sequence of the Basidiomycetous Fungus *Flammulina velutipes* TR19.: Genome Announc (2016) 4: e00505-16; Kurata A, Fukuta Y, Mori M, Kishimoto N, Shirasaka N.
5. A high-molecular-weight, alkaline, and thermostable β -1,4-xylanase of a subseafloor *Microcella alkaliphila*, Extremophiles (2016), 20, 471-478.; Kuramochi K, Uchimura K, Kurata A, Kobayashi T, Hirose Y, Miura T, Kishimoto N, Usami R, Horikoshi K.
6. Properties of an ionic liquid-tolerant *Bacillus amyloliquefaciens* CMW1 and its extracellular protease. Extremophiles, (2016), 20, 415-424.; Kurata A, Senoo H, Ikeda Y, Kaida H, Matsuhara C, Kishimoto N.
7. Complete genome sequence of the xylan-degrading subseafloor bacterium *Microcella alkaliphila* JAM-AC0309, Journal of Biotechnology. (2016) 221, 32-33.; Kurata A, Hirose Y, Misawa N, Wakazuki S, Kishimoto N, Kobayashi T.

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

8. Antimicrobial properties and mechanism of volatile isoamyl acetate, a main flavour component of Japanese sake (Ginjo-shu). *Journal of Applied Microbiology* 118.4 (2015): 873–880.; Ando, H., Kurata, A., Kishimoto, N.

ビジネスモデル G

1. イメージング質量分析の食品科学への応用: 久後裕菜・山本彩実・森山達哉・財満信宏; *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.* 64, 11–15(2016)
2. 質量分析イメージング法による脂質の可視化: 久後裕菜・山本彩実・森山達哉・財満信宏; *オレオサイエンス* 16:225–231.(2016)
3. Significant advancement of mass spectrometry imaging for food chemistry.; Y. Yoshimura, N. Goto-Inoue, T. Moriyama, N. Zaima; *Food Chemistry* 210: 200–211 (2016)
4. ^{*12} Anti-osteoporotic activity of syringic acid diet in ovariectomized mice.; T. Tanaka, N. Kawaguchi, N. Zaima, T. Moriyama, Y. Fukuta, N Shirasaka; *J. Nat. Med.* 71:632–641 (2017)

<図書>

1. 現代菌類学大鑑; 堀越孝雄監修(共訳) 2016 年刊行
2. 食品学Ⅱ; 栢野新市ら編(羊土社)(分担・きのこ類) 2016 年刊行
3. きのこの生理機能と応用開発の展望; 監修 江口文陽(S&T 出版)(分担・マツタケ) 2017 年刊行

<学会発表>

2015 年度

1. Fukuta Y, Iwanaga T, Terashita T, Shirasaka N, Characterization and gene cloning of proteases from *Lentinula edodes*, 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu, Dec 19, 2015
2. Onuma H, Fukuta Y, Kusuda M, Terashita T, Shirasaka N, cDNA cloning of β -glucosidase gene from *Tricholoma matsutake*, 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu, Dec 19, 2015
3. Fuji Y, Fukuta Y, Shirasaka N, Internal amino acid sequence of pigment from *Pleurotus salmoneostramineus*, 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu, Dec 19, 2015
4. Shirasaka N, Iwamoto K, Fukuta Y, Enzymes for GABA formation in edible mushroom, RGJ congress, June 12, 2015
5. 藤井陽介・山口裕加・白坂憲章・福田泰久, トキイロヒラタケ (*Pleurotus salmoneostramineus*) 由来色素タンパクの構造解析, 日本菌学会第 59 回大会, 沖縄, 2015 年 5 月 17 日
6. 福田泰久・松下朋加・寺下隆夫・白坂憲章, *Lentinula edodes* 由来菌体外酸性プロテアーゼの遺伝子クローニング, 日本菌学会第 59 回大会, 沖縄, 2015 年 5 月 17 日
7. 岩本和子・福田泰久・白坂憲章, 食用きのこ子実体における GABA 生成に関する酵素について, 日本きのこ学会第 19 回大会, つくば, 2015 年 9 月 5 日
8. 大沼広宜・福田泰久・楠田瑞穂・寺下隆夫・白坂憲章, マツタケ(*Tricholoma matsutake*)培養菌糸由来糖質分解酵素遺伝子群の発現解析, 第15回糸状菌分子生物学コンファレンス, 調布, 2015 年 11 月 19 日
9. 福田泰久・白坂憲章, シイタケ培養菌体内プロテアーゼ遺伝子群の発現解析, 日本農芸化学会2015年度大会, 札幌, 2016 年 3 月 29 日

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

10. 大庭将矢・福田泰久・白坂憲章, ブナシメジ栽培工程におけるアミノペプチダーゼ群の活性の変動, 日本農芸化学会2015年度大会, 札幌, 2016年3月29日
11. 大沼広宜・福田泰久・亀井健吾・白坂憲章, マツタケ(*Tricholoma matsutake*)培養菌糸由来糖質分解酵素遺伝子群の発現解析, 日本農芸化学会2015年度大会, 札幌, 2016年3月29日

以上を含めて26件

2016年度

1. Kamei K, Shirasaka N, Purification and Characterization of Xylan Degrading Enzyme from Mycelium of *Tricholoma matsutake*, ISMS 2016, Amsterdam, June 1, 2016
2. Fukuta Y, Shirasaka N, Enzymatic characterization and gene expression analysis of proteases from *Lentinula edodes* ISMS 2016, Amsterdam, June 1, 2016
3. Onuma H, Fukuta Y, Shirasaka N, Expression analysis of polysaccharide hydrolyzing enzyme genes from *Tricholoma matsutake*. ISMS 2016, Amsterdam, June 1, 2016
4. ^{*3,7} 大庭将矢・福田泰久・白坂憲章, ブナシメジ由来アミノペプチダーゼの精製及び遺伝子クローニング, 日本きのこ学会第20回大会, 静岡, 2016年9月8日
5. ^{*2} 大沼広宜・福田泰久・白坂憲章, *Tricholoma matsutake* NBRC30605株の De novo 解析及び糖質分解酵素の特定, 第68回日本生物工学会大会, 富山, 2016年9月29日
6. ^{*5} 福田泰久・大沼広宜・白坂憲章, *Pleurotus ssalmoneostramineus* L. Vass NBRC31859株の Whole genome shotgun 配列決定, 第16回糸状菌分子生物学コンファレンス, 京都, 2016年11月17日
7. 白坂憲章, キノコ類微生物の子実体形成機構の解明を目指したゲノムデータベースの構築(シンポジウム発表), 第16回糸状菌分子生物学コンファレンス, 京都, 2016年11月18日
8. 原健人・大沼広宜・亀井健吾・福田泰久・白坂憲章, マツタケ(*Tricholoma matsutake*)由来菌体外グルコアミラーゼの精製と性質, 日本農芸化学会2017年度大会, 京都, 2017年3月18日
9. ^{*6} 大沼広宜・原健人・亀井健吾・福田泰久・白坂憲章, マツタケ(*Tricholoma matsutake*)由来菌体外グルコアミラーゼの *Pichia pastris* による分泌発現, 日本農芸化学会2017年度大会, 京都, 2017年3月18日
10. 大庭将矢・福田泰久・白坂憲章, *Hypsizygus marmoreus* 由来アミノペプチダーゼに関する研究, 日本農芸化学会2017年度大会, 京都, 2017年3月19日
11. 田中照佳・川口信久・財満信宏・森山達哉・福田泰久・白坂憲章, キノコに含まれるシリング酸はエストロゲンレセプター非依存的に骨粗鬆症モデルマウスの骨密度減少を抑制する, 日本農芸化学会2017年度大会, 京都, 2017年3月19日
12. ^{*11} 大石卓史・白坂憲章・福田泰久, 人工栽培マツタケに対する消費者選好, 林業経済学会 2016年秋季大会, 島根, 2016年11月12日

以上を含めて17件

2017年度

1. Shirasaka N, Kamei K, Onuma H, Fukuta Y, Purification and characterization of a Xylan-degrading enzyme from *Tricholoma matsutake*, IUMS 2017, Singapore, July 18, 2017
2. Onuma H, Uchiyama H, Fukuta Y, Shirasaka N, Purification and characterization of a glycoside hydrolase family 15 protein, glucoamylase from ectomycorrhizal fungus, *Tricholoma matsutake* and secretory expression in *Pichia pastoris*, IUMS 2017, Singapore, July 18, 2017

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

3. Fukuta, Y., Oba, M., Fuji, K., Shirasaka, N., Studies on functional analysis of metalloprotease and aminopeptidase from *Hypsizygus marmoreus*, IUMS 2017, Singapore, July 18, 2017
4. 波多野彩子・熊谷椎菜・中西祐二・平山朋美・福田泰久・白坂憲章, *Pleurotus salmoneostramineus* NBRC31859 由来メタロプロテアーゼに関する研究, 日本きのこ学会第21回大会, 宮崎, 2017年9月7日
5. ^{*8} 松井葵・米田雄紀・福田泰久・白坂憲章, *Pleurotus salmoneostramineus* 人工栽培における色素タンパク遺伝子発現量の継時的変化, 日本きのこ学会第21回大会, 宮崎, 2017年9月7日
6. ^{*10} 魚川岳登・佐藤魁・川野雄亮・清原昂輝・阿部美穂・福田泰久・白坂憲章, *Pleurotus salmoneostramineus* における形質転換系の開発, 第17回糸状菌分子生物学コンファレンス, 佐賀, 2017年11月17日
7. ^{*1,9} 佐藤魁・中筋千晶・福田泰久・白坂憲章, *Pleurotus salmoneostramineus* L. Vass NBRC31859 株の単核体の配列解析及びデータベースの構築, 第17回糸状菌分子生物学コンファレンス, 佐賀, 2017年9月17日
8. 林 紅甫・金村実奈・坂上吉一・城島 透・森 美穂, 有害真菌に対する植物由来の新規抗菌活性物質の探索, 日本防菌防黴学会第44回大会, 大阪, 2017年9月27日
9. 柴富妃那野・楠本 祐介・坂上吉一・城島 透・森 美穂, きのこ由来の有用生理活性物質の探索, 日本防菌防黴学会第44回大会, 大阪, 2017年9月27日
10. ^{*13} 大石卓史・財満信宏・白坂憲章・福田泰久, きのこ消費の現状と機能性への期待, 林業経済学会 2017年秋季大会, 福岡, 2017年11月11日
11. 福田泰久・魚川岳登・佐藤魁・川野雄亮・清原昂輝・阿部美穂・白坂憲章, *Pleurotus salmoneostramineus* における形質転換法の開発とその応用, 日本農芸化学会 2018年度大会, 愛知, 2018年3月17日

以上を含めて15件

<研究成果の公開状況> (上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等
<既に実施しているもの>

プロジェクト開始時に、<http://www.nara.kindai.ac.jp/mext/mext-kinoko/index.html> を開設し、この中でプロジェクトの内容、メンバー、業績、事業報告などを取り扱っている。

<これから実施する予定のもの>

該当なし

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

14 その他の研究成果等

招待講演

1. 白坂憲章, キノコ類微生物の子実体形成機構の解明を目指したゲノムデータベースの構築(シンポジウム発表), 第16回糸状菌分子生物学コンファレンス, 京都, 2016年11月18日
2. 白坂憲章, マツタケ研究最前線, 千葉県立博物館 きのこワールド, 2017年11月23日, 千葉県立博物館
3. 白坂憲章, 応用微生物が挑むキノコ研究 –マツタケは人工栽培できるか–, 徳島大学研究クラスター 指定クラスター特別セミナー, 2017年12月1日, 徳島大学
4. 財満信宏・大石卓史・白坂憲章・森山達哉, 「食品分野における MSI データ使用に対する一般消費者の意識調査」, 質量分析イメージングセミナー2018, 2018年2月28日, 島津製作所

メディア・プレスリリース等

1. NHK 「ガッテン」2016年4月27日
「新発見！鶏むね肉がこんなにもやわらかくなるとは！」
マイタケを使ったわざについて解説
2. 朝日新聞「あのとき それから」 2016年9月28日(夕刊)
マツタケ人工栽培についてコメント
3. 関西テレビ 関ジャニ∞のジャニ勉 2017年6月21日放送
「関ジャニ∞の頑固道; 渋谷すばるのしいたけは絶対に食わねえ」でコメント
4. 日本テレビ系 スッキリ 2017年11月10日
学祭対決(vs 東農大) きのこ屋&マツタケ研究
5. 読売新聞 西日本版「大学の経営力 近畿大学4;産学連携ビジネス」2018年2月25日
マツタケ人工栽培についてコメント

特許

1. 白坂憲章、福田泰久、田中照佳、川口信久、沼田史江
骨代謝改善用組成物及び骨代謝改善食品
出願番号:特願 2017-040722
出願日:平成 29 年 3 月 3 日
2. 白坂憲章、福田泰久、田中照佳、川口信久、沼田史江
脂質代謝改善用組成物及び脂質代謝改善用食品
出願番号:特願 2017-040682
出願日:平成 29 年 3 月 3 日

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

<「選定時」に付された留意事項>

外部評価を適切に受けること

<「選定時」に付された留意事項への対応>

外部評価を適切に受けるため、きのこの生理・生化学の分野で著名な研究者の方々にプロジェクト開始時より外部評価委員に就任していただき、年度ごとの成果報告会にて成果の評価を行っていただいた。また、外部評価委員の意見を参考にして、研究方針および予算執行の検討を行った。

<「中間評価時」に付された留意事項>

該当なし

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

該当なし

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

16 施設・装置・設備・研究費の支出状況(実績概要)

(千円)

年度・区分	支出額	内 訳						備 考
		法 人 負 担	私 学 助 成	共同研 究機関 負担	受託 研究等	寄付金	その他()	
平成 27 年度	施設	55,000	32,921	22,079	0	0	0	0
	装置	166,995	82,399	84,596	0	0	0	0
	設備	12,000	4,000	8,000	0	0	0	0
	研究費	54,150	27,075	27,075	0	0	0	0
平成 28 年度	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	0	0	0	0	0	0	0
	研究費	15,390	7,695	7,695	0	0	0	0
平成 29 年度	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	0	0	0	0	0	0	0
	研究費	15,390	7,695	7,695	0	0	0	0
総 額	施設	55,000	32,921	22,079	0	0	0	0
	装置	166,995	82,399	84,596	0	0	0	0
	設備	12,000	4,000	8,000	0	0	0	0
	研究費	84,930	42,465	42,465	0	0	0	0
総 計		318,925	161,785	157,140	0	0	0	0

(様式2)

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

17 施設・装置・設備の整備状況 (私学助成を受けたものはすべて記載してください。)

《施設》(私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。)(千円)

施設の名 称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
きのこ栽培施設	27	196 mm ²	1	70	55,000	22,079	私学助成

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

0 m²

《装置・設備》(私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。)

(千円)

装置・設備の名称	整備年度	型 番	台 数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)							
超高感度MALDI-TOF/TOF MS	27	ブルカー-AutoFlexSpeed TOF/TOF KN2システム	1	11520 h	79,996	39,997	私学助成
次世代ゲノムシーケンスシステム	27	イルミナNextSeq500システム	1	720 h	44,199	22,099	私学助成
きのこ培養・栽培装置一式	27	培養・栽培試験用実験装置	1	17520 h	45,000	22,500	私学助成
				h			
(研究設備)							
プロテインシーケンサー	27	島津PPSQ-31Bシステム一式	1	2880 h	12,000	8,000	私学助成
				h			
				h			
(情報処理関係設備)							
				h			
				h			
				h			
				h			

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

18 研究費の支出状況

(千円)

年 度	平成 27 年度	積 算 内 訳		
小 科 目	支 出 額	主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
		教 育 研 究 経 費 支 出		
消耗品費	19,070	試薬・実験器具類		
光熱水費	0			
通信運搬費	0			
印刷製本費	0			
旅費交通費	601	学会・シンポジウム参加・調査旅費		
報酬・委託料	200	外部評価委員謝礼金など		
()				
計	19,871			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	0			
教育研究経費支出	0			
計	0			
設 備 関 係 支 出 (1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	34,279			
		大型恒温高湿槽特型	4,407	
		恒湿恒温槽特型	2,452	
		クリーンベンチ	1,564	
		フリーズ超低温槽	1,383	
		フリーザー	241	
		冷凍・冷蔵庫	1,028	
		密閉式超音波破碎装置	4,666	
		微量分光光度計	1,469	
		キャピラリー電気泳動装置	4,999	
		超純水装置	4,767	
		分析顕微鏡システム	3,888	
		細胞破碎装置	1,983	
		菌床調製機	1,091	
		種菌接種機	341	
図 書	0			
計	34,279			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0			
ポスト・ドクター	0			
研究支援推進経費	0			
計	0			

法人番号	271017
プロジェクト番号	S1512004

年 度	平成 28 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消耗品費	7,970	試薬実験器具類	
光熱水費	0		
通信運搬費	0		
印刷製本費	100	論文投稿料・資料印刷など	
旅費交通費	500	学会・シンポジウム参加・調査旅費	
報酬・委託料	100	外部評価委員謝礼金など	
()			
計	8,670		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人件費支出 (兼務職員)	3,600	一般的な事務作業及び実験補助	時給 950円, 年間時間数 1263時間 実人数 3人
教育研究経費支出	0		
計	3,600		
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教育研究用機器備品	0		
図 書	0		
計	0		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター	3,120	実験及び論文作成	学外1名
研究支援推進経費			
計	3,120		学外1名

年 度	平成 29 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消耗品費	9,290	試薬実験器具類	
光熱水費	0		
通信運搬費	0		
印刷製本費	100	論文投稿料・資料印刷など	
旅費交通費	500	学会・シンポジウム参加・調査旅費	
報酬・委託料	100	外部評価委員謝礼金など	
()			
計	9,990		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人件費支出 (兼務職員)	4,800	一般的な事務作業及び実験補助	時給 950円, 年間時間数 1263時間 実人数 4人
教育研究経費支出			
計	4,800		
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教育研究用機器備品	0		
図 書	0		
計	0		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター	600	実験及び論文作成	学外1名
研究支援推進経費			
計	600		

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

「きのこの子実体形成機構の解明とそのマツタケ等有用食用きのこの類の人工栽培化技術確立への応用を目指した研究基盤形成」の外部評価についてのコメント

1. 栽培検証・研究試料供給グループ

マツタケの純粋培養菌糸体による人工栽培では、いかに大量のマツタケ菌糸体を培養できるかが前提となる。すなわち、子実体の発生に見合う菌糸体量を有する大型菌床を作ることがマツタケ人工栽培の第一歩である。その点で、本事業におけるきのこ栽培施設の導入は大型菌床の作製を可能にしたといえる。

大型菌床の作製には、栽培培地の基材（支持体）や糖質源の検討によって大きな改善が図られた。通常、きのこ菌床の菌糸まん延程度は外見でしか判断できず、子実体形成に必要な菌床菌糸体量の合理的な測定法の開発が求められてきた。本プロジェクトにおいて、マツタケ菌床中の菌糸体量の新規な定量法が確立された。菌糸体定量により、培地基材や栄養源の配合、菌株間差、培養速度などを客観的に評価することが可能となり、マツタケ人工栽培の最大の課題である大型菌床の効率的な作製とその評価法を確立したことは高く評価できる。なお、マツタケについては、さらに国内外の菌株収集につとめられたい。

2. 遺伝子・タンパク質解析グループ

担子菌きのこの遺伝子解析をおこない情報のデータベースを構築した。トキイロヒラタケの孢子由来単核体の次世代シーケンサーによる遺伝子解析（全ゲノム解析）をおこない、単核体からの子実体形成能をもつ菌株が取得された。また、同単核体を用いた汎用性のある形質転換系が開発された。単核体への異種遺伝子の導入と発現法を確立したことは、トキイロヒラタケのみならず、担子菌きのこの子実体形成を誘導するメカニズムを解明するうえで評価しうる成果である。

3. 本プロジェクトの成果の当該分野におよぼす役割

マツタケの大量かつ大型の菌床作製は、マツタケの純粋培養菌糸体による人工栽培においては避けて通れない課題であった。また、菌床の大型化をめざしても、菌床のもつ菌糸体量が把握できていなければマツタケ子実体発生の可能性すら予測できない。マツタケ菌床作製技術は、栽培培地や菌株を検討することにより、培養期間の短縮や大型化が可能となった。菌床の菌糸体量を指標にしてマツタケ子実体発生の判断基準とする手法は独創的な成果であり、当該分野において先端的な技術を提供した。菌床菌糸体量の合理的・客観的な定量法はマツタケのみならず広く担子菌きのこ、とりわけ栽培きのこの菌床からの収量を的確に予測する方法として今後普遍的に利用しうるものと評価できる。また、きのこ栽培施設の導入が大型菌床の大量かつ連続的な作製を可能にしたのはいうまでもない。

トキイロヒラタケの子実体形成能のある単核株のスクリーニングや、形質転換実験法の確立、子実体形成機構に関わる遺伝子の破壊による逆遺伝学的解析、異種遺伝子発現によるタンパク機能の解析などは、きのこの子実体形成メカニズムを分子生物学的に解明する分野にあらたな知見を提供し、この分野の進展に大きな役割をおよぼすものと期待される。

2018年5月8日

外部評価委員 京都菌類研究所 所長 山中 勝次

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

「きのこの子実体形成機構の解明とそのマツタケ等有用食用きのこ類の人工栽培化技術確立への応用を目指した研究基盤形成」

これまで、3年間外部評価委員として携わってきましたが、その3年間における成果についてコメントいたします。多彩かつ多くの成果が放出されつつある中、特に以下の3点が高く評価できると判断致しました。

1. きのこ栽培設備の整備

大学におけるきのこ栽培研究の課題は、きのこ生産現場に準じた生産設備がない点でありました。具体的には、培地基質の種類、培地作製方法、さらには、種菌接種方法などが挙げられます。このことが、大学における研究成果を社会に還元する上での障害となっていました。しかしながら、本事業で整備された栽培設備は、きのこ生産現場に忠実に沿ったものであります。従いまして、得られた研究成果を即、社会に還元できる環境が整ったと言えます。本事業で整備された設備が、将来のきのこ産業の発展に貢献すると思いますので、今後の有効活用に大いに期待いたします。

2. マツタケの大型菌床作製技術の確立

きのこの子実体を得るためには、その基盤となる培養基質に菌糸体を蔓延させることが前提であります。特に、マツタケのように、宿主樹木と共生する外生菌根菌を、宿主の無い条件下で蔓延させることは極めて困難であります。しかし、本事業において、培地に添加する栄養剤や菌株選抜等の試行錯誤を積み重ね、本難題を克服しています。今後、新たに整備されたきのこ栽培設備をフル活用して、マツタケの大型菌床作製技術の精度向上と生産個数の増大を図れば、マツタケの人工栽培の可能性が高まると思われれます。

3. トキイロヒラタケにおける単核子実体形成菌株の分離

本事業においてトキイロヒラタケの担子孢子分離系統から子実体を形成する菌株の分離に成功しています。このことから、遺伝的バックグラウンドがホモな菌株を用いて子実体形成に関する実験が可能となるため、子実体形成関与遺伝子の追跡が容易になります。今後は、本菌株を利用することで子実体形態形成に関する分子生物学的研究が飛躍的に加速すると思われれます。

2018年5月15日

外部評価委員 鳥取大学農学部

附属菌類きのこ遺伝資源研究センター

教授

霜村典宏

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「きのこの子実体形成機構の解明とそのマツタケ等有用きのこの類の人工栽培化技術確立への応用を目指した研究基盤形成」評価報告書

本事業は、①きのこ形成菌類のゲノム情報やタンパク質アミノ酸配列情報に関するデータベースの構築②汎用性のあるきのこ形成菌類の遺伝子組換えモデルの開発③キノコ栽培環境の整備等に取り組み、研究環境を整えることにより、きのこ形成菌類が「きのこ」を作る仕組みを解明し、最終的にはマツタケの人工栽培化技術開発へと応用することを目指したものである。3カ年の研究プロジェクトの成果として以下の事項が評価できるものとして挙げられる。

きのこ形成菌類の全ゲノム *de novo* 解析ならびにデータ公開：*Tricholoma matsutake*, *Flammulina veltipes*, *Hysizygyus marmoreus*, *Pleurotus salmoneostramineus*. について全ゲノム解読ならびにアッセンブル作業を行い、DDBJに登録して、広く利用できる形にした。すでに公開されている種のゲノム情報と合わせて本プロジェクトで明らかにされた情報は、今後、菌株間差異あるいは菌株特性の解明など、きのこ形成菌類の応用面において資するところが多いと評価できる。

Pleurotus salmoneostramineus (トキイロヒラタケ) を用いた分子生物学的手法ならびに実験系開発: 本プロジェクトにおいてトキイロヒラタケの単担子孢子分離株を作出、スクリーニングし、子実体形成能を有する単核菌糸株を得た。さらに、これら単核菌糸株を宿主として形質転換実験手法の確立を行なっている。一般に担子菌は、「きのこ」形成(子実体形成)には重相化(二核菌糸形成)が必要であり、特にヘテロタリズムを持つ菌株では、和合的な2菌糸が必要不可欠である。子実体形成に重相化が必要な菌類では、突然変異あるいは遺伝子の破壊による子実体形成研究が極めて困難である。数多の担子菌において子実体形成機構研究の進捗が緩慢な理由はここに起因し、研究の進捗はこの問題を解決できた限られた菌種によってのみもたらされている。本プロジェクトで得られた単核発茸系統は、本研究領域のリーディングプラットフォームになる可能性を秘めており、遺伝子タギングを含む発茸突然変異株を作出、解析することにより、この研究領域をリードすることが十

分に期待できる。

マツタケ菌床作製技術の開発：固体培養法を用いて条件検討を行い、マツタケ菌床作製を試みた。マツタケの人工栽培において発茸の問題は古くから認識されているが、もう一つ重要な要素は子実体生育に必要なバイオマスである。マツタケの野外発生調査研究から、1本の子実体が生育するのに少なくとも30cm立方のシロ・菌根バイオマスが必要であり、菌根を通してのリソース供給が得られない人工栽培ではこれ以上の菌体バイオマス形成をさせる必要があると考えられている。本プロジェクトでは、種々の条件を検討し、従来法に比べて短時間で菌体バイオマスを得る培養法を見出した。人工栽培の実現には発茸メカニズム解明の問題が未だ存在しているが、子実体生育が可能と考えられる菌体バイオマスを形成させうる菌床作製技術はマツタケの人工栽培にまつわる諸問題の解決において一つの進歩であると評価できる。

本事業で整備されたきのこ栽培設備を活用し、解析途上のトキイロヒラタケ子実体形成時のRNAseqデータなどを用いて、子実体形成に関わる研究を展開し、菌体バイオマス中のリソースがどのように子実体生育に分配されるのかを明らかにできれば、基礎生物学に著しい貢献をもたらし、さらにマツタケをはじめとする有用きのこ形成菌類に対して、産業としての応用展望が図れるものとして強く期待できる。

平成30年5月14日

評価委員

京都大学農学研究科教授

田中千尋 