

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：15101
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2015～2017
 課題番号：15K07514
 研究課題名(和文)きのこは、なぜアルコール発酵できないのか？

研究課題名(英文)Why can't mushrooms ferment ethanol?

研究代表者

会見 忠則 (AIMI, TADANORI)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号：90264928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：アルコール生産の鍵酵素となる、i)ピルビン酸脱炭酸酵素、ii)アルコール脱水素酵素、iii)アルデヒド脱水素酵素の発現解析を行うことで、「きのこは、なぜアルコール発酵できないのか？」の回答を得た。ピルビン酸炭酸酵素遺伝子の発現が非常に弱いこと、また、アルコール脱水素酵素やアルデヒド脱水素酵素の役割は、エタノール代謝から、芳香族化合物の分解に進化したと示唆された。そこで、「アルコール発酵可能なきのこの作出」のために、パン酵母由来のアルコール脱水素酵素遺伝子とピルビン酸脱炭酸酵素遺伝子をナメコ由来グリセルアルデヒドリン酸脱水素酵素プロモーターの制御化できのこ細胞内での発現を試みている。

研究成果の概要(英文)：In order to answer the question "Why mushrooms cannot ferment ethanol?", i) pyruvate decarboxylase, ii) alcohol dehydrogenase, and iii) aldehyde dehydrogenase genes which are key enzymes of alcohol production, were identified and their expression were analyzed. As the result, the expression of pyruvate decarboxylase gene is very weak, and it was strongly suggested that the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase has evolved from ethanol metabolism to decomposition of aromatic compounds.

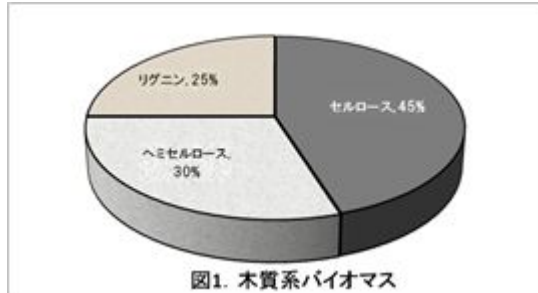
Therefore, expression of alcohol dehydrogenase gene and pyruvate decarboxylase gene isolated from baker's yeast under the control of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase promoter from Nameko, are to be investigated to breed ethanol fermentable mushroom

研究分野：菌類分子遺伝学

キーワード：きのこ エタノール アルコール脱水素酵素 ピルビン酸脱炭酸酵素 アルデヒド脱水素酵素 グリセルアルデヒドリン酸脱水素酵素 ナメコ 発現解析

1 . 研究開始当初の背景

近年、石油に代わる代替エネルギーとしてバイオマスエタノールが注目され、様々な研究開発が進められている。バイオエタノールを生産する原料として食料となるトウモロコシやコムギ、サトウキビが大量に使われてきたが、それにより、発展途上国の更なる食料不足が引き起こされた。そこで、木質バイオマスを原料とした、バイオマスエタノール生産が期待されるが、図1に示す様に、およそセルロース約45%、ヘミセルロース約30%、リグニン約25%を含む複合体である木質系バイオマスの分解糖化は容易ではない。



地球上で最もアルコール発酵能力のある微生物は、パン酵母 *Saccharomyces cerevisiae* であるが、デンプン分解酵素系はもちろんのこと、セルロース分解酵素系やリグニン分解酵素系を持たないため、木質系バイオマスをアルコール発酵することはできない(図2)。そのため、酵母細胞にセルラーゼ分解系の酵素遺伝子を導入し、セルロースからバイオマスエタノールを作ることができる菌株の分子育種が試みられてきたが、純粋な結晶セルロースの分解でさえ、最低3種類の酵素(エンド-β-グルカナーゼ、セロピオヒドロラーゼやβ-グルコシダーゼ)を作用させる必要があり、これらの全てを効率良く発現し、セルロースからアルコールを生産することは実現していない。ましてや、リグニンを含む木質バイオマスの分解となると、さらに多くの酵素遺伝子を酵母細胞に導入することが必要となるため不可能に近い。

セルロース分解能力の高いカビである *Trichoderma harzianum* 等のセルラーゼ高生

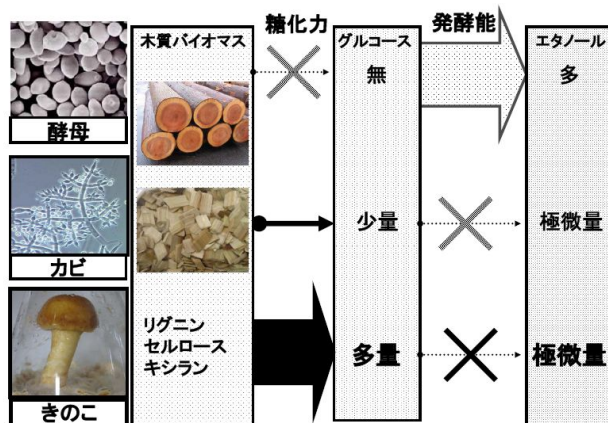


図2. 木質バイオマスの利用性と発酵能

産糸状菌とパン酵母の組合せにより、糖化と

発酵を別々の生物に行わせる試みも検討されている。この方法のメリットは、セルロース分解酵素活性を阻害するグルコース等の分解産物が、酵母により利用されることにより、培養系から取り除かれ、*T. harzianum* 等の糸状菌のセルロース分解活性の維持が考えられるが、やはり、*T. harzianum* 等のカビでは、リグニン分解系の酵素をもたない(図2)。また、通常ヘミセルロースから生じる5単糖のキシロースやセルロースから生じるセロピオースを効率良く発酵できる酵母は見つかっていない。

地球上で、最も効率良くリグノセルロース系の木質バイオマスを分解・利用可能なきのこ類(担子菌類)などの木材不朽菌(図2)のアルコール発酵能は無いが、著しく低い。アルコール発酵できるとされる担子菌も報告されたが、たかだか1%程度のアルコールしか生成できないため、実用には程遠い。これまで試みられてきた酵母にリグノセルロース分解酵素系の遺伝子を導入するという分子育種法にも限界がある。そこで、逆転の発想で、リグノセルロースの糖化能力を有するきのこ類にアルコール発酵能を付与する代謝工学的な育種ができれば、木質バイオマスからの効率の良いアルコール生産技術の開発も夢ではないと考えた。

2 . 研究の目的

酵母と同じ菌類でありながら、きのこ類(担子菌類)は、高度な木質バイオマスの分解・利用能力をもつにも関わらず、アルコール発酵能が、無いが非常に低いため、液体燃料の生産には未利用である。そのアルコール発酵能非常に低い理由を明らかにし、セルフクローニング技術により分子育種し、木質バイオマス等からエタノールを生産することのできる、きのこ菌株を作出することを目的とした。

本研究では、酵母と同じ菌類であるきのこ類が、何故アルコール発酵できないのかについて明らかにする。グルコースが解糖系を経てピルビン酸へと変換される代謝経路は共通であるため、図3に示す様に、ピルビン酸脱炭酸酵素または、アルコール脱水素酵素活性が鍵となる。パン酵母においては、アルコール脱水素酵素と呼ばれる遺伝子は、*Adh1* ~ *Adh7* まで合計7個のアルコール脱水素酵素遺伝子が知られ、このアルコール脱水素酵素の遺伝子量またはその発現量が、アルコール発酵能に関係している可能性が高いことが示唆されている。そこで、我々は、食用きのこであるナメコ (*Pholiota microspora*) の全ゲノム配列を、次世代シーケンサーにより解析したところ、少なくとも2つのアルコール脱水素酵素遺伝子 (*Adh1*, *Adh2*) を見出したが、パン酵母の7つには、到底及ばなかった。また、これらのアミノ酸配列比較による系統解析では、きのこのアルコール脱水素酵

素は、菌類である酵母より、哺乳動物のものより相溶性が高いことが解った。従って、きのこにおけるアルコール脱水素酵素は、エタノールに特化したアルコール脱水素酵素ではなく、例えば、きのこが、自然界において、優秀なリグニン分解者であることを考えると、リグニンに由来するフェノール系水酸基等に作用するよう進化していき、古代菌類の祖先が、担子菌類と酵母に分かれていく際に、アルコール発酵能を失っていったと想像できる。以上のことから、きのこ類のアルコール脱水素酵素活性の増強による逆進化 (reverse evolution) により、きのこにおいてもアルコール発酵可能な菌株の育種を試みた。

3. 研究の方法

図3 に示す様に、エタノールは、グルコースの解糖によって生じたピルビン酸から、ピルビン酸脱炭酸酵素及びアルコール脱水素酵素の働きによって生じる。また、きのこは、好気性生物であるので、ピルビン酸は、主にピルビン酸脱水素酵素複合体の働きにより、アセチルCoAとなり、TCAサイクルで代謝される。従って、より多くのアルコールを生産させるためには、ピルビン酸脱炭酸酵素及びアルコール脱水素酵素の働きをより強く、そして、ピルビン酸脱水素酵素複合体の働きをより弱くすることが、必要になってくる。

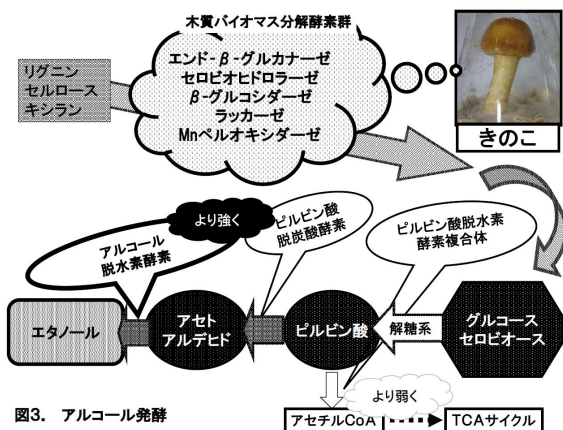


図3. アルコール発酵

そこで、まず、アルコール生産の鍵酵素となる、ピルビン酸脱炭酸酵素、アルコール脱水素酵素の各遺伝子の同定とその発現解析を行うことで、「きのこは、なぜアルコール発酵できないのか？」という疑問に対する回答を得ることを試みた。我々は、完全な整列はされていないが、次世代シーケンサーにより解析したナメコ NGW19-6 株の全ゲノムのドラフト配列の中から、上記アルコール代謝関連の遺伝子の抽出を行った。次いで、全長の cDNA の同定とリアルタイム PCR 装置を用いて、様々な培養条件下でのこれらの酵素遺伝子の発現量を定量し、プロモーター活性の強さについて確認を行った。同時に、ナメコのもつ糖化力を確認するために、 α -グル

コシダーゼ遺伝子、 α -アミラーゼ遺伝子、グルコamilラーゼ遺伝子の同定、及び発現解析も行った。

次いで、パン酵母由来 *Adh* 及び *Pdc* をナメコ細胞内で発現させるために、ナメコ由来グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素遺伝子 (*Gapdh*) のプロモーターからターミネーターまでの領域をクローニングし、そのオープンリーディングフレーム (ORF) すなわち、タンパク質をコードする部分を酵母由来 *Pdc* または、*Adh* の ORF と入れ替えることで、ナメコ *Gapdh* プロモーター制御下で酵母由来 *Pdc* または、*Adh* が発現するような、組換え遺伝子を作成した。これらを、カルボキシ耐性またはハイグロマイシン耐性マーカーをもったプラスミドベクターをマーカーとして共形質転換を行い、遺伝子を導入した。

この場合、形質転換用のベクターとして、図4に示す、カルボキシ耐性またはハイグロマイシン耐性マーカーをもったプラスミドベクターをマーカーとして共形質転換を行い、遺伝子を導入した。

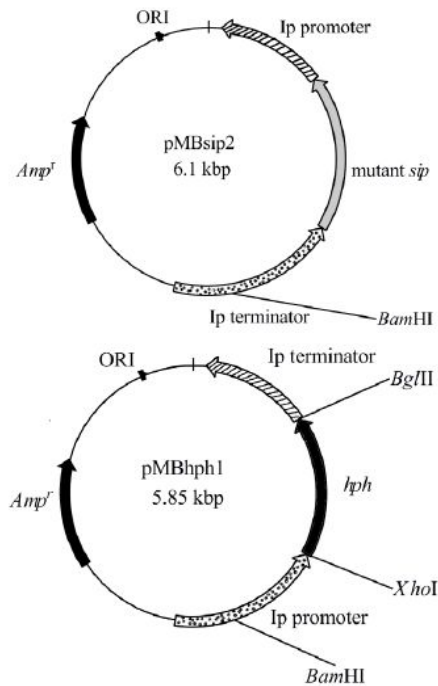


図4. ナメコ形質転換用ベクター

4. 研究成果

(1) リグニン分解酵素遺伝子群の解析

木材の難分解性リグニン分解は、細胞外リグニン分解酵素を生産する白色腐朽菌能力に基づいており、そのリグニン分解能力とアルコール生産との関係について調べた。

本研究では、まず、ナメコにおけるリグニン遺伝子ファミリーを同定した。ナメコには、5個のマンガネルオキシダーゼ (*MnP*) と9個のラッカーゼ (*Lcc*) 遺伝子があったが、リグニンペルオキシダーゼ遺伝子は存在しなかった。次に、リグニン分解遺伝子を分析し、5個の *MnPs* の遺伝子を同定した。ヌクレオチ

ドおよびアミノ酸配列についてそれぞれ、イントロン - エクソン位置と系統発生関係を解析した。PnMnP5, 3, 2 と 4 が緊密にクラスターを形成していたが、PnMnP1 は PnMnP5 から比較的遠い系統関係にあった。また、qRT-PCR の結果からは、PnMnP5 遺伝子のみが強く転写されており(図 5), M4 液体媒体中の他の MnP よりも、15 倍高く発現した。おがくず培地の PnMnP5 は M4 液体培地のものよりも 100 倍の転写量があった。これらより、PnMnP5 は、ナメコの菌糸成長において、リグニンペルオキシダーゼ反応で重要な役割を果たしていることが示された。MnPs のイントロンの位置の比較と系統関係及び発現解析の結果により、全てのナメコの MnPs は同じ起源のものであり、それらは古代ナメコのゲノム中での複製により増幅されていると考えられた。

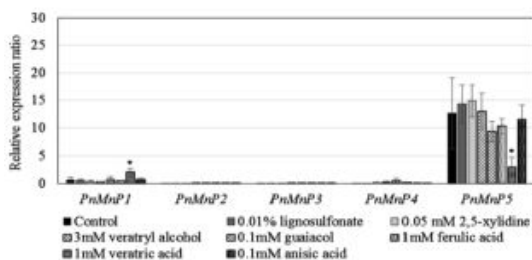


図5. Relative expression ratio of PnMnP1-5 genes in *P. microspora* mycelial culture in amended M4 medium with aromatic compound used for substrate for MnP. Total RNA was observed on day10 by qRT-PCR in triplicate of samples, which are denoted by standard error bars. Asterisks indicate that the difference in expression level is significant between control basal medium and supplemented with aromatic compound used for substrate for MnP (t-test, $p < 0.05$).

次に、フェノールオキシダーゼの生理学的役割を評価するために、フェノールオキシダーゼ遺伝子である 9 個のラッカーゼおよびチロシナーゼの塩基配列を解析した。ナメコにおける *Lcc1* ~ *Lcc9* と *Tyr* 遺伝子の発現を qRT-PCR によって解析した(図 6)。おがくず培地上に成長した菌糸体、原基、子実体、及び芳香族化合物を添加した M4 液体培地中で増殖させた菌糸体において、これらの 10 個の遺伝子の転写産物を定量した。すべての *Lcc* 遺伝子は、おがくず培地上で増殖させた菌糸体においては非常に低い水準で発現したが、*Lcc1* はベラトリルアルコール 3 mM を添加した M4 液体培地中で M4 液体培地の発現水準よりも 8 倍高かった。一方、*Lcc9* とチロシナーゼは原基および子実体で非常に多く発現した。これらの結果より、子実体中のメラニンと関連色素の含有量は、ナメコにおける *Lcc* および *Tyr* などのフェノールオキシダーゼの 2 種類の相補的活性によって決定される可能性が示唆された。

以上の結果から、転写レベルでの ナメコ

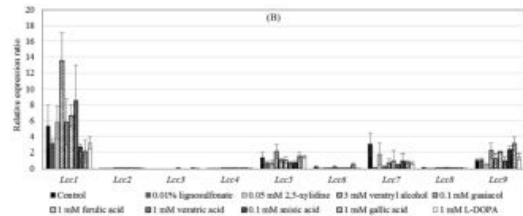


図6. Relative expression ratio of *Lcc1*-9 genes during development of *P. microspora* in sawdust medium. Total RNA was extracted from mycelia cultivated for 1 and 3 months (mo.), primordia, and fruiting bodies (A). Mycelia cultured in M4 medium with aromatic compounds (B) were observed by qRT-PCR. All samples were assessed in triplicate, with variation denoted by standard error bars.

のマンガンペルオキシダーゼとフェノールオキシダーゼの発現における生理的役割は、マンガンペルオキシダーゼは、おがくず培地上で成長する菌糸にとってリグニン分解のために必要であること、ラッカーゼとチロシナーゼ含むフェノールオキシダーゼは、ナメコの子実体における関連色素の合成に必要であると結論できた。

(2) アルコール代謝酵素遺伝子群の解析
アルコール生産の鍵酵素となる、ピルビン酸脱炭酸酵素、アルコール脱水素酵素、アルデヒド脱水素酵素の各遺伝子の同定とその発現解析を行うことで、「きのこは、なぜアルコール発酵できないのか？」という疑問に対する回答を得ることにした。ナメコゲノム中から見いだされた 2 つのアルコール脱水素酵素 (*Adh*)、8 つのアルデヒド脱水素酵素 (*Aldh*) と 2 つのマンニトール-1-リン酸脱水素酵素 (*Mpd*) 遺伝子の発現を解析した結果、*Aldh1, 2, 3, Adh1, 2*、及び *Mpd1, 2* の転写は、1 mM のエタノールの存在下の液体培養において全く影響を受けなかった。しかし、*Mpd1* の発現はアセトアルデヒドで促進されたことから、したがって、*Mpd1* は、エタノール生産のためのアルコール脱水素酵素の候補である。また、ピルビン酸脱水素酵素遺伝子 (*Pdc*) は、弱いながら常に発現していた。以上のことから、ナメコをアルコール発酵できるように改変していくためには、主にアルコール脱水素酵素の発現量と基質特異性の違い及びピルビン酸脱水素酵素の発現量の少なさにあることと推察された。一方、*Aldh1* と *Adh2* の転写は、3 mM のベラトリルアルコールの存在で促進された。したがって、*Aldh1* と *Adh2* の役割は、エタノール代謝から、芳香族化合物の分解に進化した可能性があると考えられた(図 7)。さらに、*Adh1, Mpd1, Mpd2* と *Aldh1* の転写は菌糸より原基および子実体で高かった。この現象は *Adh1, Mpd1, Mpd2* と *Aldh1* の応答は子実体形成中に酸化ストレスが存在することを示

唆していた。以上の結果は、アルデヒド脱水素酵素が、エタノール分解に関与しないことを示唆しており、分解活性はエタノール蓄積に影響していないことが推察された。

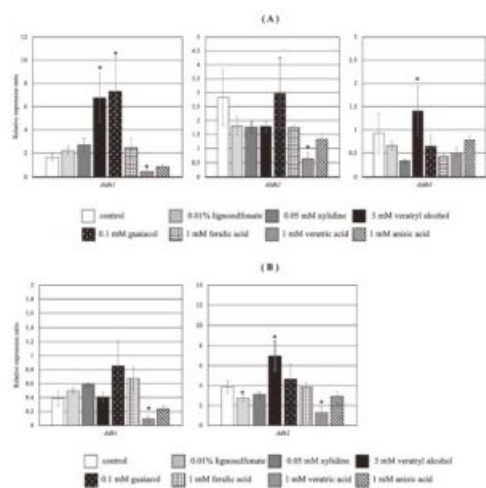


図7. Relative expression of Aldh1-3 (A) and Adh1-2 (B) in *P. microspora* mycelia cultured in M4 medium with aromatic compounds. Total RNA was measured on day 10 by qRT-PCR in triplicate, with variation denoted by standard error bars. Asterisks indicate a significant difference in expression between control basal medium and medium supplemented with aromatic compounds (t-test, $p < 0.05$).

(3) 糖化力の解析

ナメコを栽培するための培地は、鋸屑に適量の米ヌカを加えて調製する。米糠中の主な炭水化物は、セルロース、ヘミセルロース、そして、デンプンである。デンプンは、グルコースがグリコシド結合で繋がったポリマーで、自然界で、2番目に豊富な炭水化物であり、グルコアミラーゼ、または、 α -アミラーゼ及び α -グルコシダーゼにより、グルコースまで分解される。これまでの研究で、明らかにされていたグルコアミラーゼ1遺伝子 (*PnGlu1*) の他に、ナメコのゲノムの配列中に、第二のグルコアミラーゼ遺伝子 (*PnGlu2*)、3つの α -アミラーゼ遺伝子 (*PnAmy1*, *PnAmy2* と *PnAmy3*)、 α -グルコシダーゼ遺伝子 (*PnGcs*) 及びマルターゼ遺伝子 (*PnMal*) を見出した。 *PnGlu1* と *PnGlu2* は、糖質加水分解酵素ファミリー15、*PnAmy1*, *PnAmy2* と *PnAmy3* 及び *PnMal* は、糖質加水分解酵素ファミリー13に属し、それぞれサブファミリー32、サブファミリー5とサブファミリー1に属していた。また、*PnGcs* の推定アミノ酸配列は、糖質加水分解酵素ファミリー31タンパク質であった。

次に、様々な炭素源を含む最少培地及び、鋸屑培地で栽培した際のこれらの遺伝子の菌糸体および原基、子実体などの組織における発現を定量的逆転写PCRにより調べた。その結果、異なる炭素源を含有する最少培地中の *PnGlu1* と *PnGlu2* 発現は、鋸屑培地に比べてはるかに低かった。マルトースを唯一の炭

素源として用いた場合、*PnGlu1* 発現の菌糸体での最高レベルが観察された。*PnGlu2* の転写レベルは、他の炭素源よりもアミロース含有培地において高かった。鋸屑培地における *PnGlu1* の転写レベルは、二核性菌糸体において高く、*PnGlu2* の発現は、原基および子実体の段階で高かった。本研究では、このように、2つのグルコアミラーゼ遺伝子 *PnGlu1* と *PnGlu2* の発現の差を見出し、このような菌糸の成長と子実体の形成などの各発達段階において調節されていることを示した。

また、*PnAmy1* と *PnAmy3* の発現は、最少培地中で、様々な炭素源によって調節されており、デンプン分解における重要な役割を果たしていることを示唆していた。*PnAmy1* と *PnAmy3* の最高レベルの発現は、アミロペクチン及びアミロースを唯一の炭素源として使用した場合に観察された。一方、*PnAmy2* 発現は、最少培地中のグルコース以外の種々のデンプンによりわずかに誘導された。*PnAmy3* は、栄養菌糸成長中に発現している一方で、*PnAmy1* と *PnAmy2* 発現は鋸屑培地中の子実体の発達と密接に関連していた。

ナメコは、異なる炭素源を添加した最少培地中で増殖させたときに、*PnGcs* の発現は、マルトースによって高レベルで誘導された。鋸屑培地上で培養した際の *PnGcs* の発現は、菌糸成長時と比べ、子実体形成段階で劇的に増加したことから、子実体形成に密接に関連していることが、示唆された。一方、同じ酵素活性をもつと思われる、*PnMal* は、菌糸体で発現が高かった。

完全に子実体形成プロセス全体を理解するために、多くの仕事は、将来的に行われる必要があるが、本研究によるデンプン分解酵素をコードする遺伝子のクローニングと鋸屑培地における遺伝子発現と組み合わせた解析により、子実体の形成段階におけるナメコのデンプンの利用を説明するための強固な基盤が確立できた。また、以上のことは、これらのプロモーターを制御するために、デンプンの有無の制御が有効であるという、重要な知見を与えるものと考えられる。今後、本研究の目的を達成するためには、*PnGlu1* 及び *PnAmy3* の二つの遺伝子のプロモーターを使って、外来のアルコール脱水素酵素遺伝子等を高発現させることが有効ではないかと示唆された。

(4) アルコール発酵可能なきのこの作出

当初の計画においては、オイディアや担子胞子に紫外線照射し、エタノールを産生する菌株の選抜を試み、有望な菌株を得ることが出来なかった場合、ナメコ由来のピルビン酸脱炭酸酵素遺伝子 (*Pdc*)、アルコール脱水素酵素遺伝子 (*Adh*) 等をナメコ野生株または変異株に導入し、過剰発現させることで、アルコール生産に対する効果を検証することにしてきたが、過去2年間の研究成果、特に、アルコール脱水素酵素遺伝子、アルデヒド脱水

素酵素遺伝子の発現解析の結果から，ナメコ由来の酵素には，そのアルコールに対する基質特異性が失われてしまっていることが，強く示唆されたため，一遺伝子の欠損や変異のみでは，本研究の目的を達成しえず，遺伝子組換え等の分子育種技術が必要になると思われた．そこで，変更し，パン酵母 *S. cerevisiae* 由来のアルコール脱水素酵素遺伝子とピルビン酸脱炭酸酵素遺伝子をナメコに導入することにした．計画の変更により，組換え実験の安全に関わる学内審査を受ける必要性が生じたため，「アルコール発酵可能なきのこの作出」という実験計画として，鳥取大学遺伝子組換え実験安全委員会の審査をパスした後に，本研究を継続した(承認番号；29-055)．

今回の研究では，ナメコに導入するパン酵母 *S. cerevisiae* 由来のアルコール脱水素酵素遺伝子は，*Adh1* 及び *Adh6* は，共に，エタノールよりもアセトアルデヒドの方に親和性が高いという報告があったからである．また，ピルビン酸脱炭酸酵素については，*Pdc1* を使うことにした．パン酵母由来 *Adh* 及び *Pdc* をナメコ細胞内で発現させるためには，ナメコ由来グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (*Gapdh*) のプロモーターからターミネーターまでの領域をクローニングし，そのオープンリーディングフレーム (ORF) すなわち，タンパク質をコードする部分を酵母由来 *Pdc* または *Adh* の ORF と入れ替えることで，ナメコ *Gapdh* プロモーター制御下で酵母由来 *Pdc* または，*Adh* が発現するような，組換え遺伝子を作成した．これらを，カルボキシン耐性マーカーをもったプラスミドベクターをマーカーとして共形質転換を行い，遺伝子を導入した．現在，得られた形質転換体の解析を行っているところである．

5. 主な発表論文等

(研究代表者，研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6件)

1) Zhu, G., Hayashi, M., Shimomura, N., Yamaguchi, Y., and Aimi, T.: Differential expression of three α -amylase genes from the basidiomycetous fungus *Pholiota microspora*. *Mycoscience*, (査読あり) 58(3), 188-191 (2017) <https://doi.org/10.1016/j.myc.2017.01.005>

2) Zhu, G., Hayashi, M., Shimomura, N., Yamaguchi, Y., and Aimi, T.: Expression of α -glucosidase during morphological differentiation in the basidiomycetous fungus *Pholiota microspora*. *Journal of basic microbiology*, (査読あり) 56(9):1036-1045 (2016) <https://doi.org/10.1002/jobm.201500752>

3) Zhu, G., Wan, J., Hayashi, M., Shimomura, N., Yamaguchi, Y., and Aimi, T.: Identification, Characterization and expression of the second glucoamylase gene from *Pholiota microspora*. *Mushroom Science and Biotechnology*, (査読あり)

24(2): 77-84 (2016)

4) Sutthikhampa, S., Kawai, Y., Hayashi, M., Boonlue, S., Shimomura, N., Yamaguchi, Y., and Aimi, T.: Transcriptional analysis of alcohol and aldehyde dehydrogenase gene families in *Pholiota microspora*, and estimation of their physiological roles. *Mushroom Science and Biotechnology*, (査読あり) 24(1): 16-23 (2017)

5) Sutthikhampa, S., Kawai, Y., Hayashi, M., Boonlue, S., Shimomura, N., Yamaguchi, Y., and Aimi, T.: Only one major manganese peroxidase (MnP) is predominantly expressed for mycelial growth of *Pholiota microspora* on sawdust medium. *Mushroom Science and Biotechnology*, (査読あり) 23 (4): 159-165 (2016) https://doi.org/10.24465/msb.23.4_159

6) Sutthikhampa, S., Kawai, Y., Hayashi, M., Boonlue, S., Shimomura, N., Yamaguchi, Y., and Aimi, T.: Relationship between fruiting body development and phenol oxidase gene expression in *Pholiota microspora*. *Mushroom Science and Biotechnology*, (査読あり) 23(4): 151-158 (2016) https://doi.org/10.24465/msb.23.4_151

[学会発表](計 4件)

1) 井谷優・朱剛・林未来・霜村典宏・山口武視・會見忠則: ナメコ *Pholiota microspora* におけるデンプン分解酵素遺伝子の発現と子実体形成における役割. 日本きのこ学会第21回大会，宮崎市，Sep., 2017.

2) Itani Y., Zhu, G. Hayashi, M., Shimomura, N., Yamaguchi, T. and Aimi, T.: Expression of genes for the six starch degrading enzyme and their roles for fruiting in the basidiomycetous fungus *Pholiota microspora*. The Ubon Ratchathani University Research Conference (UBRC)", Ubon Ratchathani, Thailand, July, 2017.

3) Sutthikhampa, S., Kawai, Y., Hayashi, M., Boonlue, S., Shimomura, N., Yamaguchi, T. and Aimi, T.: Transcriptomic analysis of multigene families during fruiting body developmental of *Pholiota microspora* on sawdust medium. The 8th Meeting of Asia for Mushroom Science, Yonago, Japan, Oct., 2015.

4) Zhu, G., Wan, J., Hayashi, M., Shimomura, N., Yamaguchi T., and Aimi, T.: Roles of two glucoamylases in *Pholiota microspora*. The 8th Meeting of Asia for Mushroom Science, Yonago, Japan, Oct., 2015.

6. 研究組織

(1)研究代表者

會見 忠則 (AIMI, Tadanori)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号： 90264928