

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K06166

研究課題名(和文)きのこ -1,6-グルカンを認識する新規受容体の同定

研究課題名(英文)Identification of a novel receptor which recognizes mushroom beta-1,6-glucan

研究代表者

金野 尚武 (Konno, Naotake)

宇都宮大学・農学部・准教授

研究者番号：60549880

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：-1,6-グルカンは真菌類の細胞壁構成成分であり、生理活性(免疫賦活機能)多糖として知られている。Umbilicaria属の地衣類は-1,6-結合のみからなる直鎖状グルカンを産生する。本研究では、イワタケの熱水抽出物を担子菌由来の-1,6-グルカナーゼで酵素分解し、-1,6-グルカンオリゴ糖を調製した。分子量ごとに分取し、-1,6-グルカンオリゴ糖の免疫賦活機能をマウスマクロファージ様細胞における炎症性サイトカイン遺伝子(TNF- $\alpha$  およびIL-6)の発現により解析した。5糖以上の高純度-1,6-グルカンオリゴ糖は免疫賦活作用を有することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

-1,6-グルカンの生理機能に関する知見は、きのこ類に新しい価値を見出すことにつながる。きのこ類は木質バイオマスを基材として生産できる唯一の食品で、健康補助食品や医薬品としての可能性も持つ。食用きのこの大量栽培が可能になってきた一方で、近年は消費量は伸び悩んでいる。きのこ類には生体内において生理機能を示す多糖類が存在することから、これらの機能性を活用すれば、きのこ市場の拡大と、理想的な木材のカスケード利用システムの構築が期待できる。

研究成果の概要(英文)：-1,6-Glucan, a cell wall component of fungi, is known as a bioactive (immunostimulation) polysaccharide. In this study, the cDNAs encoding -1,6-glucan degrading enzymes (-1,6-glucanases) were cloned from basidiomycetes, and the -1,6-glucanase from *Coprinopsis cinerea* (Cc30) was heterologously expressed in *Aspergillus oryzae*. Cc30 catalyzed depolymerization of -1,6-glucan endolytically, and was highly specific toward -1,6-glucan polysaccharide. Lichen *Umbilicaria* species produce linear glucan composed of only -1,6-linkages. We prepared -1,6-glucan oligosaccharides from the hot-water extracts of *Umbilicaria esculenta* using the obtained -1,6-glucanase. Antitumor activities of -1,6-glucan oligosaccharides were analyzed by expression of inflammatory cytokine genes (TNF- $\alpha$  and IL-6) in mouse macrophage-like cell line RAW264.7 cells. High-purity -1,6-glucan oligosaccharides of over pentasaccharides were suggested to have immunostimulatory properties.

研究分野：生物高分子材料学

キーワード：-グルカン きのこ 糖質関連酵素 免疫賦活

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### (1) きのご細胞壁多糖「 $\beta$ -グルカン」の免疫賦活機能

きのご類などの真菌類は $\beta$ -1,3-および $\beta$ -1,6-グルカン ( $\beta$ -グルコースが 1,3 および 1,6 結合した高分子多糖) を細胞壁主成分とする。これら $\beta$ -グルカンは生体内で免疫賦活 (活性化) 機能を示し、経口摂取した際は低下した免疫力を補う作用をもつ<sup>1,2)</sup>。ヒトの体内には $\beta$ -グルカン受容体タンパク質 Dectin-1 が存在する。この受容体の存在が、きのご $\beta$ -グルカンが生理機能を示す理由であり、この発見により自然免疫および抗腫瘍免疫活性に関する研究が著しく発展した。Dectin-1 はマクロファージ細胞で発見され、腸内上皮細胞にも分布が報告されている<sup>3-5)</sup>。Dectin-1 はセルロース等の他の多糖やオリゴ糖を認識 (結合) せず、 $\beta$ -1,3-グルカンや $\beta$ -1,3/1,6-グルカン ( $\beta$ -1,3-グルカン主鎖に $\beta$ -1,6 結合したグルコース側鎖をもつ) と強く結合するため $\beta$ -1,3-グルカン受容体であると考えられている<sup>6,7)</sup>。一方で、 $\beta$ -1,6-グルカンについては受容体との結合や免疫関連の機能については明らかにされていない。申請者は、シイタケに含まれる機能性 $\beta$ -1,3/1,6-グルカン (レンチナン) に関する研究を進めてきた。レンチナンは $\beta$ -1,3 結合した主鎖からなるが、 $\beta$ -1,6 結合した側鎖がなければ機能を示さないことから、免疫関連の機構に $\beta$ -1,6-グルカン構造が大きく関与することが示唆された。

#### (2) $\beta$ -1,6-グルカン分析についての課題

$\beta$ -1,3-グルカンは真菌類以外にも植物や細菌類などにも存在するため、モデル材料となる精製品が得やすく研究も進んでいる。一方、 $\beta$ -1,6-グルカンは、きのご類のような真菌類にしか存在せず、複雑かつ不均一な多糖複合体として存在し、単離が困難であるため研究例は少ない。申請者は、一般的な真菌類とは異なり、 $\beta$ -1,6-グルカンのみを構造多糖として有している真菌類「イワタケ」から抽出物を調製したところ免疫賦活機能を示すことを確認した。その免疫応答に Dectin-1 は関与していないことも示唆されており、未だ発見されていない $\beta$ -1,6-グルカンに特異的な受容体タンパク質や認識機構が生体内に存在する可能性もある。

### 2. 研究の目的

本研究では、きのご類に含まれる $\beta$ -1,6-グルカンは免疫賦活機能に着目した。 $\beta$ -1,6-グルカンは免疫賦活機能を持つことが示唆されたが、そのメカニズムについては殆ど明らかになっていない。きのご類からの $\beta$ -1,6-グルカンの調製は困難であったが、申請者は $\beta$ -1,6-グルカン分解酵素を合成酵素に作り変え (活性中心を変異)、純粋な $\beta$ -1,6-グルカンを人工合成することに成功した (H27-29 基盤 C)。また、イワタケから $\beta$ -1,6-グルカンを抽出でき、実際にマクロファージ様細胞を用いて、免疫賦活機能を示すことを確認している。以上の成果を基盤に、生体内における $\beta$ -1,6-グルカンの免疫賦活機能を解明する。

$\beta$ -1,6-グルカンは生物の中で真菌類のみが唯一所有する。よって、ヒトは $\beta$ -1,6-グルカンを真菌類認識の目印としている可能性があり、特別な認識機構を有する可能性は十分にある。その成果は自然免疫や真菌感染防御に関する研究の進展のみならず、材料科学、糖鎖科学、薬学、食品科学などにも応用でき、医薬品や健康補助食品開発に展開する波及効果の高い成果となる。

### 3. 研究の方法

#### (1) イワタケ熱水抽出物の調製

乾燥イワタケを約 1 cm 角に細くしたのち、10 倍量の精製水を加えて、121 °C で 20 分間処理することで熱水抽出した。抽出液にエタノールを加え、4 °C で 1 時間攪拌し、高分子を沈殿させた。遠心分離 (7,000×g、15 分、4 °C) することで、上清を除去し、 $\beta$ -1,6-グルカンを含む沈殿物を回収した。沈殿物をエタノールとアセトンで洗浄し常温で乾燥させた (生成物を UHW とする)。また、そのアルカリ処理物 (UHW-A) も調製した。イワタケ熱水抽出物 (UHW) に 20 倍量の 0.1 M NaOH を加え、60 °C、2 時間抽出、遠心分離 (570×g、20 分) して上清を回収した。得られた沈殿物に再度 0.1 M NaOH を加え、同様に抽出した。回収した上清を pH 7.0 になるまで、1 M HCl を加えて中和した。抽出溶液の 4 倍量のエタノールを加えて、4 °C で 1 時間攪拌し高分子を沈殿させた。遠心分離 (7,000×g、15 分、4 °C) でグルカンを含む沈殿物を回収した。沈殿物を上記と同様に洗浄後、乾燥物を得た。

#### (2) $\beta$ -1,6-グルカナーゼの調製

ウシグソヒトヨタケ (*Coprinopsis cinerea*) 由来 $\beta$ -1,6-グルカナーゼ (糖質加水分解酵素ファミリー 30) を、こうじ菌に異種発現させ、His タグ付きの組換え酵素を調製した。本酵素を Cc30 と表記する。YPM 液体培地 500 mL で、前培養した菌体を加え、25 °C、100 rpm、4 日間振とう培養した。酵素は TALON® Metal Affinity Resin (タカラバイオ) で精製した。

### (3) $\beta$ -1,6-グルカンオリゴ糖の調製

調製したイワタケ抽出物 (UHW および UHW-A) を酵素分解するため、Cc30 を用いて、50 mM 酢酸ナトリウムバッファー (pH 5.0) 中で 26 °C、24 時間反応させた。酵素反応終了後、沸騰水浴中で 2 分間加熱することで酵素を失活させた。得られたイワタケ抽出物の酵素分解物 0.12 g に精製水を 2 mL 加え、沸騰水浴中で 3 分間加熱し溶解させた (終濃度 4%)。遠心分離 (10,000 × g、15 分、20 °C) し、不溶性画分を取り除いた。上清を約 1 mL サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) に供した。SEC は TOYOPESRL®HW-40S カラム (カラムサイズ 488 mL、2.6 × 92 cm) を用いて行いオリゴ糖を分離した。流速は 0.5 mL/min で 6 min ごとに分取した。各フラクション中に含まれるオリゴ糖は薄層クロマトグラフィーで検出した。展開溶媒として、酢酸エチル/酢酸/水 = 3/2/1 (v/v/v) を用いて、1 時間展開させた。一晩乾燥させて、TLC 発色試薬 [5 % (v/v) 硫酸、0.5 % (w/v) チモールを含むエタノール溶液] に薄層板を浸して乾燥させ、加熱して各サンプルを検出した。

### (4) 細胞試験と RNA 調製

糖サンプルの免疫賦活機能を評価するために、マウス由来マクロファージ様細胞 (RAW264.7 細胞、株式会社ケー・エー・シー) を各サンプルで処理し、RNA を抽出後、リアルタイム PCR を用いて、サイトカイン (TNF- $\alpha$ 、IL-6) と iNOS の発現量を解析した。RAW264.7 細胞のセルストックとして  $2.4 \times 10^6$  個/mL 調製した。15 mL 容ファルコンチューブに細胞メンテナンス用培地 (DMEM [High Glu] +10%FBS、株式会社ケー・エー・シー) を 5 mL 加え、解凍した RAW264.7 ストック溶液を加え、遠心分離し上清を除去した。得られた細胞の沈殿物に細胞メンテナンス用培地を 8 mL 加え、懸濁させた。細胞培養プレート (BioLite 100 mm Tissue Culture Dish) へ懸濁液を全量注ぎ、CO<sub>2</sub> インキュベーター内 (CO<sub>2</sub> 濃度 5 %、37 °C) で培養した。培養 3~4 日目に継代を行った。培地を除去し、DPBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline、SIGMA-ALDRICH) で 2 回洗浄した。DPBS をプレートに 3 mL 加え、スクレーパー (Cell Scraper, SPL LIFE SCIENCES) を用いてプレートから細胞を剥がしとり、DPBS に懸濁させた。細胞懸濁液を遠心分離し、上清を除去した。得られた細胞を 1 mL の細胞メンテナンス用培地に懸濁させ、新しい細胞培養プレートに細胞メンテナンス用培地を 8 mL 入れた。細胞懸濁液を 400  $\mu$ L 添加し、インキュベーター内で再び培養した。培養 7 日目に、上記の継代と同様に作業し、1 mL の細胞懸濁液を得た。細胞懸濁液 10  $\mu$ L を 90  $\mu$ L の DPBS で 10 倍希釈し、さらにトリパンプル (Trypan Blue solution、SIGMA-ALDRICH) 100  $\mu$ L で 2 倍希釈した。スライドガラスに 10  $\mu$ L 滴下し、カバーガラスをかけ、位相差顕微鏡で細胞数をカウントした。細胞懸濁液が  $5 \times 10^5$  個/mL になるように細胞メンテナンス培地を加えて調製し、48 ウェルプレートに 200  $\mu$ L ずつ分注し、CO<sub>2</sub> インキュベーターで一晩培養した。

調製した各種糖サンプル、滅菌水 (ネガティブコントロール)、LPS (大腸菌由来リポ多糖、SIGMA、ポジティブコントロール、濃度 20  $\mu$ g/mL) を細胞メンテナンス培地で 100 倍希釈した。このサンプル溶液を各ウェルに 200  $\mu$ L ずつ分注 (各種糖サンプル、滅菌水:終濃度 100  $\mu$ L/mL、LPS:終濃度 100 ng/mL) し、インキュベーター内で 4 時間処理した。4 時間後、培養液を除去し、NucleoSpin® RNA (タカラバイオ) を用いて RNA を抽出した。Bio Drop で抽出した RNA 濃度を測定、-80 °C に保管した。

### (5) 遺伝子発現解析

PrimeScript® RT reagent Kit (タカラバイオ) を用い RNA から cDNA を合成した。合成した cDNA を鋳型 DNA として、THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (東洋紡株式会社) を用いてリアルタイム PCR を行った。合成した cDNA を終濃度 0.75 ng/ $\mu$ L になるように滅菌水で希釈した。THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix、2 pmol/ $\mu$ L 各遺伝子プライマー、cDNA 希釈液 8  $\mu$ L (6 ng) を LightCycler® 480 Multiwell Plate 96, white (Roche) のウェルに入れた。各遺伝子プライマーには TNF- $\alpha$ 、IL-6、iNOS、リファレンス遺伝子には  $\beta$ -Actin を用いた。IL-6、iNOS のプライマー配列は Wang, T. ら<sup>8)</sup> の方法を参考にした。LightCycler® 96 Instrument (Roche) を用いてリアルタイム PCR 反応を行った。 $\Delta\Delta$ Ct 法を用いて、各種サイトカインの発現量を算出した。キャリアプレートサンプルには精製水で処理したサンプルを用いた。RNA シークエンスは、株式会社マクロジェン・ジャパンに委託分析し、 $\beta$ -1,3-グルカン (ラミナリン) と  $\beta$ -1,6-グルカン (プスツラン) 処理による RAW264.7 細胞の遺伝子発現を比較した。

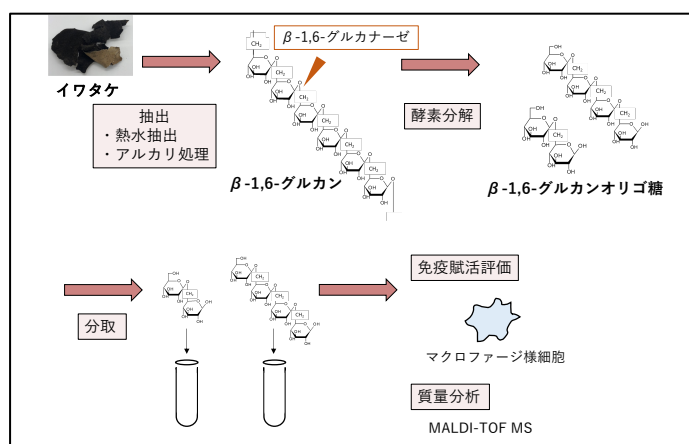


図 1 研究方法の概要

#### 4. 研究成果

##### (1) $\beta$ -1,6-グルカンの調製

きのこ類に含まれる $\beta$ -1,6-グルカンの生理機能メカニズムを解明するためには、高純度の $\beta$ -1,6-グルカンを調製する必要がある。本研究では、2つの手法で $\beta$ -1,6-グルカンの取得を進めた。

1つ目の手法として、 $\beta$ -1,6-グルカン分解酵素（グルカナナーゼ）の合成酵素への変換を行った。ウシグソヒトヨタケ (*Coprinopsis cinerea*) 由来の $\beta$ -1,6-グルカナナーゼの活性中心残基のグルタミン酸をグリシン、アラニン、セリンにそれぞれ変換し、組み換えタンパク質をこうじ菌を用いて異種発現させた。得られた酵素をそれぞれ100mM 酢酸ナトリウムバッファー(pH 5.0)、20 mM フッ化ゲンチオビオース、20°C、48hの条件で反応させた。生成物を検出したところ、収量は少ないものの2糖以上のオリゴ糖と多糖が検出でき、 $\beta$ -1,6-グルカンの合成に成功したと考えられた。しかしながら、収率が低く、出発物質との分離も困難であったため、その後の実験での使用は困難であった。

2つ目の手法として、真菌類から $\beta$ -1,6-グルカンを抽出した。イワタケの子実体から熱水抽出物またはアルカリ抽出物を調製し、エタノール沈殿等で高分子画分を得た。イワタケからは、乾燥物40gから8.8297gの $\beta$ -1,6-グルカンを高純度で含む熱水抽出物(UHW)が得られた(収率22.1%)。常温の水には溶解しないが、湯煎で温めると溶解した。さらにアルカリ処理した生成物(UHW-A)も調製した。1.5gのUHWから1.2991gのUHW-Aが得られた(UHWからの収率86.6%、乾燥イワタケからの収率19.1%)。UHWと同様に常温の水には溶解しないが湯煎すると溶解し、溶液を4°Cで保管すると白いゲル状になった。水溶液の粘度が高く、カラム分離が困難であったため、UHW-A分解物では、10%エタノールで沈殿を除去することで水溶性の高いサンプルを得ることができた。

##### (2) 酵素分解生成物の調製

イワタケ由来の抽出物は $\beta$ -1,6-グルカナナーゼ(Cc30)で酵素分解されることを確認し、 $\beta$ -1,6-グルカンオリゴ糖の調製も可能であった。Cc30は $\beta$ -1,6-グルカンへの基質特異性が高い、エンド型の酵素であった。また、反応時間を伸ばしても生成したオリゴ糖が消失せずに蓄積したことから、オリゴ糖に対しては分解活性が低いことが明らかになった。これら分解特性から、本酵素が $\beta$ -1,6-グルカンオリゴ糖の調製に適していることが示された。UHWの分解物、UHW-Aの分解物どちらも、そのRf値からグルコース、ゲンチオビオース、3糖以上のオリゴ糖のスポットが確認できた。これらを比較すると、UHW分解生成物のスポットの種類が多く、分解の程度に違いが認められ、得られるオリゴ糖も異なる可能性が示唆された。

SECを用いてUHWおよびUHW-A分解物を分離後、TLCを用いて各フラクションに含まれるオリゴ糖を検出した。UHW分解物、UHW-A分解物のどちらも、Fr. 29-53でスポットが確認できた。UHW分解物については、Fr. 50-53でゲンチオビオース、Fr. 46-49で3糖、Fr. 43-47で4糖のスポットが確認できた。Fr. 29-42では原点の位置が染まっており、それ以上の重合度のものが検出されたと考えられる。

一方のUHW-A分解物については、Fr. 33-39でスポットがほとんど確認できなかった。10%エタノールによる処理によって、除去された可能性が示唆された。Fr. 50-52でゲンチオビオース、Fr. 46-48で3糖、Fr. 44-46で4糖が確認できた。UHW分解物と同様にTLCではそれ以上の重合度のものは評価できなかったが、Fr. 29-32、Fr. 40-43では原点付近に物質が検出された。このように、UHWおよびUHW-AのCc30分解で、 $\beta$ -1,6-グルカンが低分子化し、2糖から10糖以上のオリゴ糖まで、様々な分子量のオリゴ糖が調製できたことがTLC、SECおよびMALDI-TOF MSの結果から示された。

##### (3) 免疫賦活機能の評価

$\beta$ -1,6-グルカン(プスツラン)と $\beta$ -1,3-グルカン(ラミナリン)をそれぞれマウス由来マクロファージ様細胞(RAW264.7細胞)試験に供し、RNAシーケンスを行うことで発現する遺伝子群を比較した。プスツラン処理により、ラミナリン処理したときよりもTNF- $\alpha$ 発現量が高く、

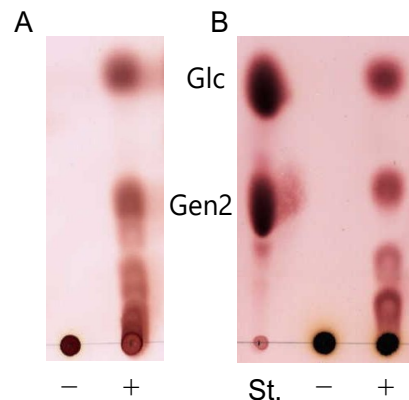


図2 TLCによるUHW(A)およびUHW-A(B)分解生成物分析。  
-, 酵素添加なし; +, 24時間酵素反応、St., スタンダード(Glc: グルコース、Gen2: ゲンチオビオース)

IL-6 といったサイトカインの発現が上昇していた。GO 解析からも免疫応答関連の遺伝子発現が高いことが明らかになった。しかしながら、 $\beta$ -1,6-グルカンに特徴的な受容体と思われる遺伝子については同定できなかった。

得られた各種オリゴ糖サンプルの免疫賦活機能を評価した。RAW264.7 細胞を各サンプルで処理した。細胞から RNA を抽出後、リアルタイム PCR を用いて、炎症性サイトカイン (TNF- $\alpha$ 、IL-6) および誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) の発現量を解析した。TNF- $\alpha$ 、IL-6 は炎症誘発性サイトカインである。iNOS は、炎症性メディエーターである一酸化窒素 (NO) を産生する働きをもつ。これらの発現量はマクロファージ活性化の指標として、免疫賦活機能の評価に広く用いられる。SEC を用いて分離したオリゴ糖の免疫賦活機能を評価することで、機能に重要な構造を特定することを目的とした。糖サンプルとして、UHW、UHW-A (未分解物)、粗生成物 (酵素分解後 SEC 未分離のオリゴ糖混合物)、分取用 SEC で得られたオリゴ糖サンプルを用いた。

UHW および UHW-A で、分離したオリゴ糖が、酵素分解前の多糖や酵素分解後の SEC 分離前の糖混合よりも高い免疫賦活性を示した。これは、活性を示す構造の純度が分取することで向上したためだと考える。また、いずれの遺伝子の発現量も、UHW 分解物は UHW-A 分解物より高いことが示された。UHW および UHW-A 分解物の SEC 分取で得られたフラクションの中で、特徴的な免疫賦活機能を示したフラクションについての結果を示す。UHW および UHW-A のどちらの分解物でも、Fr. 31 で強い免疫賦活機能を示した。また、Fr. 31 は TNF- $\alpha$ 、IL-6、iNOS のいずれの遺伝子においても発現量が高くなる傾向が認められた。Fr. 31 以外でも、UHW と UHW-A ではそれぞれに発現量に差があるものの、Fr. 45 で発現量が低くなる同じ傾向を示している。UHW 分解物では SEC フラクション No. 41 (以下 UHW\_41) で特に高い活性を示した。これらのフラクションに含まれる特定の構造が、機能に有効である可能性が示唆された。これらの質量分析を行ったところ、特に活性の高い UHW\_41 は 5 糖、6 糖、7 糖を主に含むことが示された。また、UHW では各重合度のオリゴ糖で推定分子量より約 42 の差をもつスペクトルが確認された。これはアセチル基を有しているものと考えられる。UHW-A ではアセチル基を有するオリゴ糖は一部にしか確認できなかったため、アルカリ処理によって脱アセチル化が生じていると考えられる。UHW\_41 の活性の高さから、UHW-A においても No. 41 周辺で高い活性が期待できるため、10%エタノールで除去した画分の活性評価も行う必要がある。また、これにより UHW-A の溶解性の低さは、脱アセチル化による水素結合の強化が影響している可能性が示唆された。機能分子の水溶性の高さが免疫賦活作用に影響するという知見もあることから、UHW-A の免疫賦活性が UHW よりも低いことは、溶解性による影響である可能性が示唆された。本実験において、酵素分解後の粗生成物 (図 3 の分解後混) と未分解物 (図 3 の分解前) と比較して大きな発現量の差は認められなかったが、SEC での分取後に特定の分画物で高い発現量を示したことは、免疫賦活機能を示すオリゴ糖の構造は限られており、これらオリゴ糖の純度を高めることが機能を示すために重要であると考えられた。これらのことより、免疫賦活作用には、 $\beta$ -グルカンオリゴ糖の重合度、純度、溶解性が重要であることが示唆された。

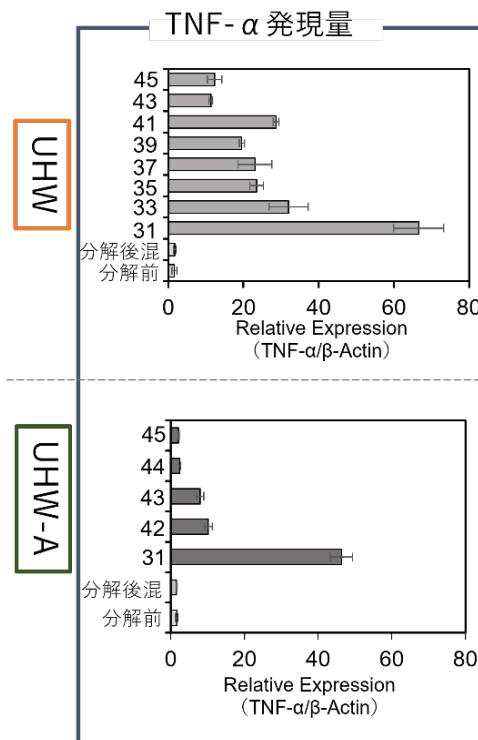


図 3 UHW および UHW-A の各種糖サンプルにおける免疫賦活評価

#### <引用文献>

- 1) Chihara et al., Nature 222:687-688 (1969)
- 2) Xu et al., J Biol Chem 287:871-878 (2012)
- 3) Arizumi et al. J Biol Chem 275:20157-20167 (2000)
- 4) Brown et al., Nature 413:36-37(2001)
- 5) Tang et al., Cell Host & Microbe 18:183-197 (2015)
- 6) Adachi et al., Infection and Immunity 72:4159-4171 (2004)
- 7) Palma et al., J Biol Chem. 281:5771-5779 (2006)
- 8) Wang et al., Int J Biol Macromol 130, 745-754, (2019)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kobayashi Nanae, Wada Nagisa, Yokoyama Haruna, Tanaka Yuki, Suzuki Tomohiro, Habu Naoto, Konno Naotake	4. 巻 13
2. 論文標題 Extracellular enzymes secreted in the mycelial block of <i>Lentinula edodes</i> during hyphal growth	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 AMB Express	6. 最初と最後の頁 36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13568-023-01547-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka Yuki, Nezu Ikumi, Aiso Haruna, Fujie Tomomi, Konno Naotake, Suzuki Tomohiro, Ishiguri Futoshi, Habu Naoto	4. 巻 87
2. 論文標題 Pectin decomposition at the early stage of brown-rot decay by <i>Fomitopsis palustris</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 555 ~ 562
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/bbb/zbad014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakamoto Yuichi, Sato Shiho, Nakade Keiko, Ito Miyuki, Yamauchi Takahiro, Eda Katsumasa, Goto Fumikazu, Mizuno Masashi, Konno Naotake	4. 巻 -
2. 論文標題 Screening of a <i>Lentinula edodes</i> Mutant That Retains Lentinan Contents Long after Being Harvested Using TILLING	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Agricultural Science & Technology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsagascitech.0c00023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shinoda Kazuma, Konno Naotake, Suzuki Tomohiro	4. 巻 61
2. 論文標題 Non-destructive analysis of the moisture content in shiitake mushrooms ( <i>Lentinula edodes</i> ) using near-infrared imaging at 1450nm	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mycoscience	6. 最初と最後の頁 235 ~ 239
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.myc.2020.04.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Yuki, Konno Naotake, Suzuki Tomohiro, Habu Naoto	4. 巻 170
2. 論文標題 Starch-degrading enzymes from the brown-rot fungus <i>Fomitopsis palustris</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Protein Expression and Purification	6. 最初と最後の頁 105609 ~ 105609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pep.2020.105609	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 金野尚武、坂本裕一
2. 発表標題 きのこ由来のキチン分解酵素
3. 学会等名 第36 回日本キチン・キトサン学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横山陽奈、金野尚武、羽生直人
2. 発表標題 真菌類由来 -1,6-グルカンを活用した機能性素材開発
3. 学会等名 日本きのこ学会第25回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林菜々恵、金野尚武、羽生直人
2. 発表標題 シイタケ菌床における菌糸の成熟度での分泌酵素の違い
3. 学会等名 日本きのこ学会第25回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横山陽奈、金野尚武、羽生直人
2. 発表標題 きのこ由来成分を活用した機能性 -1,6-グルカンオリゴ糖の調製
3. 学会等名 第72回 日本木材学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村栄美、金野尚武、羽生直人
2. 発表標題 シイタケ菌糸体による各種バイオマス素材分解能の解析,
3. 学会等名 第4回高分子学会関東支部北関東地区講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金野尚武
2. 発表標題 シイタケが生産する多糖類分解酵素群の生化学的解析とその応用
3. 学会等名 日本きのこ学会第24回大会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林菜々恵、和田凧左、金野尚武、羽生直人
2. 発表標題 シイタケ菌床栽培において菌糸蔓延時に分泌される酵素群の解析
3. 学会等名 第72回 日本木材学会大会
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 金野尚武
2. 発表標題 水環境下における多糖類の酵素分解
3. 学会等名 第69回高分子討論会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関