

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02895

研究課題名(和文) 糸状菌の細胞表面多糖を介した菌糸接着による菌糸塊形成の分子機構の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism of hyphal aggregation evoked by cell-surface polysaccharides in filamentous fungi.

研究代表者

阿部 敬悦 (Abe, Keietsu)

東北大学・農学研究科・教授

研究者番号：50312624

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：真核多細胞微生物の糸状菌(カビ)は細胞が連なって糸状の菌糸として生長する。我々は菌糸細胞壁外層に存在する -1,3-グルカン(AG)およびガラクトサミノガラクトン(GAG)を菌糸接着因子と特定し、AG及びGAGの欠損により菌糸分散を達成した。本研究では糸状菌のAG生合成に関与する酵素の変異体の菌糸接着性とAG分子量の関係性を解析した。その結果、AG分子量が40-150万程度では菌糸が接着し、AG分子量が15万以下程度に低下すると菌糸が分散することが明らかになった。またAGオリゴ糖を被覆した微粒子を用いて *in vitro* で分子量の異なるAGの接着能を評価する系を構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糸状菌は天然に300万種以上存在し、特に陸圏において分解者として動植物と相互作用しながら地球の物質循環に寄与する。産業では糸状菌の多様な酵素や化成品の生産能を利活用している。糸状菌の発酵生産では大規模な液体培養を行うが、菌糸接着で菌糸塊が形成され、その内部の酸素欠乏により自己消化して生産性が低下することが課題となっていた。本研究の成果は、菌糸接着因子である -1,3-グルカン(AG)の生合成機構の観点から、菌糸接着とAG分子量の関係性を明らかにしたことで、産業課題である菌糸分散性制御技術の開発を可能にする。AG量および分子量を低下させて菌糸を分散させることで、物質生産性は向上する。

研究成果の概要(英文)：Filamentous fungi, which are eukaryotic multicellular microorganisms, grow as filamentous hyphae, in which cells are linked together. We identified -1,3-glucan (AG) and galactosaminogalactan (GAG) present in the outer layer of the cell wall as adhesion factors for hyphae, and achieved hyphal dispersion by deleting the biosynthetic genes for AG and GAG. In this study, we analyzed the relationship between hyphal adhesion and AG molecular weight in mutants of enzymes involved in AG biosynthesis in filamentous fungi. As a result, we revealed that hyphae form aggregated pellets when the AG molecular weight is about 400,000-1,500,000, and hyphae disperse when the AG molecular weight is less than 150,000. We also constructed an *in vitro* system to evaluate the adhesive ability of AGs with different molecular weights using streptavidin-microparticles coated with biotinylated AG oligosaccharides.

研究分野：応用微生物学

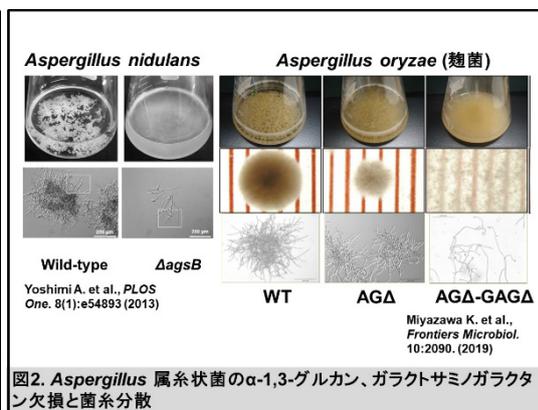
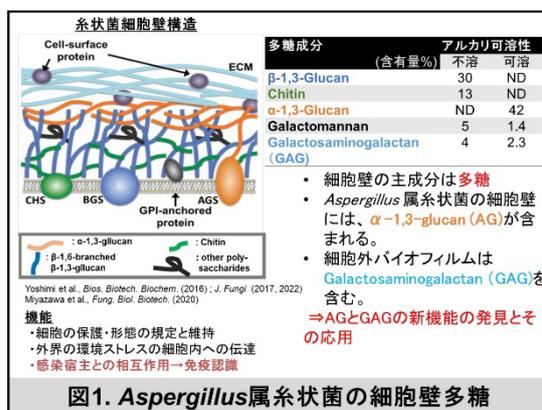
キーワード：糸状菌 細胞壁 多糖 菌糸 接着

1. 研究開始当初の背景

真核多細胞微生物である糸状菌(カビ)は、固体基質に侵入し栄養を獲得するために独自の細胞形態である「菌糸」を発達させた。カビは菌糸先端で基質の存在や環境情報を認識し、環境に応じて形態形成、分解酵素生産、二次代謝物生産を行なう。環境情報はまず細胞表面の細胞壁を介して認識される。糸状菌の細胞壁は、不溶性多糖から成り、細胞の保護や形態の維持、細胞外情報の細胞内への伝達など菌の生育に必須の役割を担っている[引用 1]。その細胞壁多糖は、細胞膜側から外側に向かってキチン、 $\beta$ -1,3-グルカン(BG)、最外層に  $\alpha$ -1,3-グルカン(AG)が存在するとされる[図 1, 引用 1]。また、細胞壁の外側に水溶性バイオフィルム(細胞外マトリックス:ECM)を形成する菌も存在する[図 1;引用 2]。近年、動植物感染真菌において、細胞表面の AG が宿主による免疫応答を回避する因子(ステルス因子)として機能することが知られてきた[引用 3]。また動物病原糸状菌において、分泌性水溶性かつ陽性荷電バイオフィルムのガラクトサミノガラクトタン(GAG)もステルス因子として機能することが報告された[図 1; 引用 4]。

一方、非感染性糸状菌にも AG や GAG 合成能が保存されているが、非感染性菌における AG や GAG の生物学的機能は不明であった[引用 5]。申請者らはモデル糸状菌 *Aspergillus nidulans* において細胞壁 AG の生合成機能を解析し、AG 欠損株の菌糸が培地中に完全分散したことから、AG は菌糸同士の接着因子であることを発見した[図 2, 引用 5]。また、産業菌の麹菌 *Aspergillus oryzae* では AG 欠損に加え GAG を欠損させた場合にのみ、菌糸の完全分散性が認められ[図 2, 引用 2]、麹菌では AG と GAG が協調的に働く菌糸接着因子であることを見出した[図 2, 引用 2]。麹菌の菌糸接着には不溶性の多糖 AG と水溶性の GAG の相互作用が関与していると考えられるが、AG および GAG 糖鎖間の相互作用の分子機構とその化学的特性は理解されていない。

菌糸接着による菌糸塊形成は、感染菌の薬剤抵抗性やストレス耐性に寄与し、産業菌では菌糸密度が上がらず有用物質生産の障害となるなど、糸状菌の多様な生物機能に重要である。我々のこれまでの研究を通じて、AG と GAG による菌糸接着機能が明らかになったが[引用 2, 6]、AG および GAG 分子が示す接着の分子機構は未だ不明である。AG は水不溶性、GAG は荷電性かつ水溶性で、広い分子量分布を有するため精製が難しく生化学的解析が困難であった[引用 2, 6]。本研究では分子量分布の異なる AG を細胞壁に提示する菌株を分子遺伝学的に育種して、細胞レベルで菌糸接着能を解析する。次いで、それらの株より AG を精製し、*in vitro* の糖鎖接着評価系を構築して、AG を介した菌糸接着の分子機構を糖鎖の化学的特性と関連付けて生化学的に解析する。



2. 研究の目的

本研究では、AG 糖鎖間の相互作用の分子機構を菌糸接着能と糖鎖相互作用の面から解明する。そのために、以下のことを明らかにする。

- (1) 異なる分子量の AG を産生する株の菌糸接着にはどのような差があるか?
- (2) AG 合成関連酵素は、AG 分子量制御と菌糸接着にどのように関与するのか?
- (3) 分子量の異なる精製 AG を用いた AG 糖鎖相互作用の差は?

3. 研究の方法

本申請研究では以下の 3 課題を設定して細胞壁糖鎖間の相互作用を解析する。

(1) 【課題 1】AG 合成関連遺伝子改変株の菌糸接着能の測定

① *A. nidulans* 細胞内アミラーゼ遺伝子欠損株の菌糸接着解析

*A. nidulans* の AG 合成では、細胞内で  $\alpha$ -1, 4 結合のプライマーとなるマルトオリゴ糖の非還元末端に AG 合成酵素が  $\alpha$ -1, 3 結合でグルカン鎖を伸張させると考えられている[図 3, 引用 1]。海外の研究グループはルトオリゴ糖プライマー合成酵素である細胞内アミラーゼ遺伝子 *amyG* 遺伝子の破壊( $\Delta amyG$  株)により菌糸が分散することを報告している[7]。我々は  $\Delta amyG$  株では細胞壁の AG 量の減少に加え、AG 分子量が低下して菌糸が分散することを見出している[引用 6]。*A. nidulans* は *amyG* 遺伝子に加え細胞内  $\alpha$ -グルコシダーゼ遺伝子 *agdF* を有しており(未発表)、AglD もプライマー合成に寄与する可能性がある。そこで、*agdF*

破壊株、*amyGagdF* 二重破壊株を育種して、菌糸接着能を検証する。各株の菌糸接着で出来る菌糸塊のサイズを顕微鏡で測定し定量化する。

② *A. nidulans* GPI アンカー型アミラーゼ遺伝子 *amyD* 欠損および高発現株の菌糸接着解析  
糸状菌 *A. nidulans* は AG 合成酵素遺伝子 *agsB* の近傍に細胞内アミラーゼ遺伝子 *amyG* と共に GPI アンカー型アミラーゼをコードする *amyD* 遺伝子も有している [引用 1, 7]。そこで *amyD* 遺伝子破壊株及び高発現株を育種して、菌糸分散性を確認する。

(2) 【課題 2】AG 合成関連遺伝子改変株の AG 分子量の測定

① *A. nidulans* 細胞内アミラーゼおよび  $\alpha$ -グルコシダーゼ遺伝子欠損株の AG 分子量の測定  
*A. nidulans* 各アミラーゼ遺伝子欠損変異株の細胞壁多糖をアルカリ分画を行って得た 2M NaOH 可溶性画分(AS2)中のグルカンの分子量を Miyazawa et al.の方法に従ってゲル浸透クロマトグラフィー [GPC] によって決定した [引用 8]。初めに AS2 画分 5 mg を 1 mL の H<sub>2</sub>O に懸濁し 1 時間以上ボルテックスを用いて混合した後、10,000 × g で 10 分間遠心し、上清を取り除いた。残った AS2 画分に 1 mL の *N,N*-ジメチルアセトアミド [DMAc] を加えて懸濁後、10,000 × g で 10 分間遠心し上清を取り除き、この操作を 3 回繰り返した。残った AS2 画分に 8%LiCl/DMAc を 200  $\mu$ L 加えて完全に溶解させ、GPC に供するまで 4°C で保存した。GPC に供する前に DMAc で 2 倍 (適宜) 希釈した。GPC 測定は、GPC-101 システム (Showa Denko, Tokyo, Japan) および脱気装置 (ERC-3125S; Showa Denko)、示差屈折率 [RI] 検出器 (RI-71S; Showa Denko) を用いて行った。

② *A. nidulans* GPI アンカー型細胞外アミラーゼ遺伝子 *amyD* 欠損株の AG 分子量の測定  
*A. nidulans amyD* 遺伝子欠損変異株および *amyD* 遺伝子高発現株の細胞壁多糖を 1)と同様にアルカリ分画を行って得た AS2 画分中のグルカン(AG)の分子量を GPC で計測した。*A. nidulans amyD* の麹菌オルソログ *agtA* を *A. nidulans* で高発現して AG 分子量を計測した。

③ *A. oryzae* GPI アンカー型アミラーゼ *AgtA* の酵素学的研究  
麹菌 *AgtA* から GPI アンカーを除いた形で C-末に His6-tag を導入して、*Pichia pastoris* ので発現し、Ni カラムで *AgtA* を精製した。精製 *AgtA* の酵素学的解析を行った [引用 9]。

(3) 【課題 3】AG 被覆粒子を用いた AG 糖鎖相互作用解析手法の開発と AG 糖鎖凝集評価  
これ迄、AG の分子量が直接的に菌糸凝集性に関与することは実験的には示されていない。本研究では AG 分子量と菌糸凝集性の関係を示すための材料として  $\alpha$ -1,3-グルカノ (ニゲロ) オリゴ糖被覆粒子を作製し、分子量の異なる AG の凝集試験に利用する。細菌由来酵素により酵素合成した AG であるムタン(東大 岩田研究室より分与)を出発物質としてアセトリシスを行い、100 mg のムタンから 14 mg のニゲロオリゴ糖 (DP6~15) を得た。ストレプトアビジンコート磁気粒子へのニゲロオリゴ糖被覆のため、ニゲロオリゴ糖を NaBH<sub>3</sub>CN 存在下でビオチンヒドラジドと反応させ、ビオチン化ニゲロオリゴ糖を得た。FT-IR、<sup>1</sup>H-NMR、MALDI-TOF MS によりビオチン化反応が進行したことを確認した。本反応により 10 mg のニゲロオリゴ糖から、1.5 mg のビオチン化ニゲロオリゴ糖が得られた。続いて、アビジン-ビオチン相互作用によりビオチン化ニゲロオリゴ糖でストレプトアビジンコート磁気粒子を被覆した。得られたニゲロオリゴ糖被覆粒子は、AG の推定分子量が異なる *A. nidulans* 変異体の発芽分生子およびその変異体菌糸から調製した AG と混合して、凝集状態を解析した。

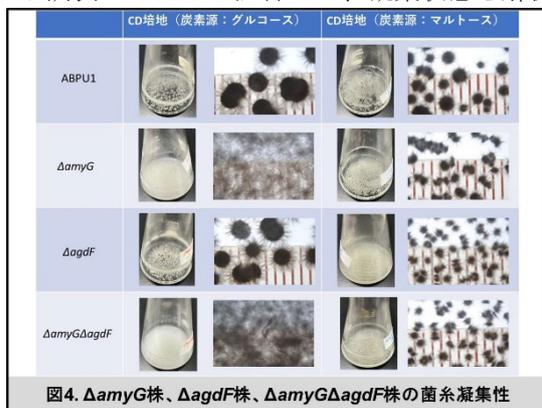


図4.  $\Delta amyG$ 株、 $\Delta agdF$ 株、 $\Delta amyG\Delta agdF$ 株の菌糸凝集性

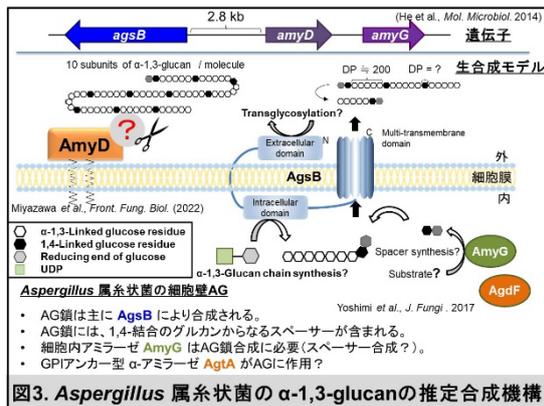


図3. *Aspergillus* 属糸状菌の  $\alpha$ -1,3-glucan の推定合成機構

#### 4. 研究成果

(1) AG 合成関連遺伝子改変株の菌糸接着能の測定

① *A. nidulans* 細胞内アミラーゼ遺伝子欠損株の菌糸接着解析

Glucose を炭素源として培養した場合、野生型株 (ABPU1) は 2-3mm 程度の大きな菌糸塊を形成

し、Maltose を炭素源とした場合 1-2mm 程度の菌糸塊を形成した。、*A. nidulans* の *amyG* 遺伝子破壊株 ( $\Delta amyG$ ) は菌糸分散性を示し、Maltose を炭素源とすると菌糸塊を形成した。[図 4]。一方、*agdF* 遺伝子破壊株 ( $\Delta agdF$ ) は炭素源がグルコースでもマルトースでも菌糸塊を形成した。これらの結果は、AmyG が AG 合成のプライマーであるマルトオリゴ糖を生産することを示唆している。*amyG* 欠損株ではマルトースかその代謝物が細胞内でプライマーとして機能して AG が合成されて菌糸接着が起こったと予想された。

次いで AG 合成酵素を高発現した株 (*agsB<sup>OE</sup>*) に *amyG* 遺伝子および *agdF* 遺伝子を破壊した株を作成し、菌糸接着を観察した。*agsB<sup>OE</sup>* 株はグルコースおよびマルトースを炭素源として菌糸塊を形成し、*agsB<sup>OE</sup> Δ amyG* 株は炭素源がグルコースで菌糸分散気味、マルトースでは菌糸塊を形成した [図 5]。興味深いことに *agsB<sup>OE</sup> Δ agdF* 株および *agsB<sup>OE</sup> Δ amyG<sup>Δ</sup> agdF* 株は、両炭素源で菌糸が分散した。これらの結果は、AgsB の存在量に対してプライマーが不足すると AG の伸長量が不足して低分子化が起こっている可能性を示唆している。今後、 $\alpha$ -1,3-グルカンの分子量を計測して確認の予定である。

## ② *A. nidulans* GPI アンカー型アミラーゼ遺伝子 *amyD* 欠損および高発現株の菌糸接着解析

モデル糸状菌 *A. nidulans* では GPI アンカー型アミラーゼ AmyD が存在し、*amyD* 遺伝子の高発現により細胞壁 AG 量が減少し、 $\Delta amyD$  株では AG 量が増えることが知られていた [引用 7, 10]。また、産業菌 *Aspergillus niger* においては AmyD のオルソログである AgtA の生化学的研究が行われ、AgtA は AG を殆ど分解せず、マルトオリゴ糖を転移する活性が報告されていた [引用 11]。しかし、AG の分子量と菌糸接着性に関しては不明であった。本研究では AG 分子量と菌糸接着性の関連性を調べることを目的に、*A. nidulans* 野生型、*agsA<sup>OE</sup>*、*agsB<sup>OE</sup>* の各株で *amyD* 遺伝子高発現 (*amyD<sup>OE</sup>*)、*amyD* 遺伝子破壊 ( $\Delta amyD$ ) を行った。

図 6 に示したように、野生型株への *amyD<sup>OE</sup>* の導入により細胞壁 AG 量が減少し、菌糸は分散した。野生型株の菌糸塊が緊密であるのに比較して、 $\Delta amyD$  株では *agsA<sup>OE</sup>* 株に類似して菌糸塊表面が緩い表現型を示した。一方、*agsA<sup>OE</sup>* 株および *agsB<sup>OE</sup> Δ amyD<sup>OE</sup>* および  $\Delta amyD$  を導入しても AG 量に大きな差はなく、菌糸接着性も親株に類似していた。

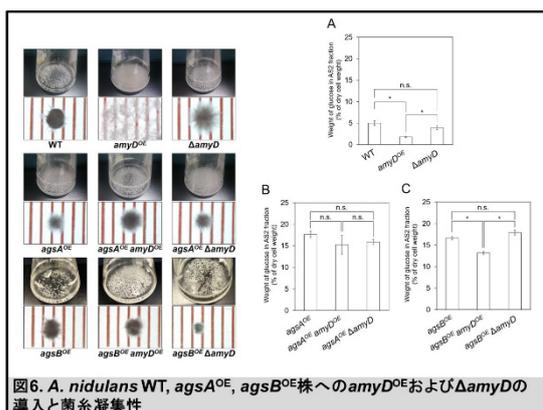


図6. *A. nidulans* WT, *agsA<sup>OE</sup>*, *agsB<sup>OE</sup>* 株への *amyD<sup>OE</sup>* および  $\Delta amyD$  の導入と菌糸凝集性

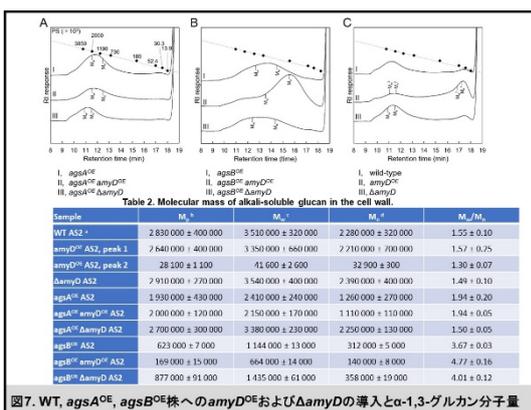


図7. WT, *agsA<sup>OE</sup>*, *agsB<sup>OE</sup>* 株への *amyD<sup>OE</sup>* および  $\Delta amyD$  の導入と $\alpha$ -1,3-グルカン分子量

## (2) AG 合成関連遺伝子改変株の AG 分子量の測定

### ① *A. nidulans* 細胞内アミラーゼ遺伝子欠損株の AG 分子量の測定

アミラーゼ遺伝子関連の AG 分子量解析では、 $\Delta amyG$  株のみが先行して行われ、AG 量が野生型株の 3 割程度に減少し、分子量も 40 万から 10 万程度に減少することが明らかになっていた。菌糸分散も起こっており、AG 量の減少と分子量の減少のどちらが菌糸分散により支配的なのかは明らかではない。 $\Delta agdF$  関連株は作出が出来たばかりで、今後解析を行う予定である。

### ② *A. nidulans* GPI アンカー型アミラーゼ遺伝子 *amyD* 欠損及び高発現株の AG 分子量の測定

GPC 解析の結果 [図 7]、野生型株への *amyD<sup>OE</sup>* の導入により AG 分子量 3~4 万のピークが増えた。*agsA<sup>OE</sup>* 株では  $\Delta amyD$  の導入により AG 分子量が親株より大きくなった。*agsB<sup>OE</sup>* の AG 分子量が 31 万に対して *amyD<sup>OE</sup>* の導入により 14 万に低下した。以上の結果は AmyD が細胞壁 AG 分子量の減少に関与することを強く示唆する結果である。*agsB<sup>OE</sup> amyD<sup>OE</sup>* 株では *agsB<sup>OE</sup>* 株に比較して AG 量が若干減少はしたものの、分子量は 31 万から 14 万に低下しており、*agsB<sup>OE</sup>* 株に比較して緩めの菌糸塊を形成した。この結果は、細胞壁表層 AG 量の低下に加え、分子量低下も菌糸接着に寄与することを示唆している。

### ③ *A. oryzae* GPI アンカー型細胞外アミラーゼ AgtA の生化学的解析

モデル糸状菌 *A. nidulans* の *amyD* の麹菌 *A. oryzae* でのオルソログ *agtA* 遺伝子を *A. nidulans*  $\Delta amyD$  株で異種発現して菌糸分散性と AG の分子量を解析した [図 8]。その結果、*amyD* 遺伝子の高発現と同様に *agtA* 高発現でも菌糸が分散し、*A. nidulans*  $\Delta amyD$  株の AG 分子量 46 万が *agtA* の高発現により約 10 万に低下した。データは提示しないが、*A. nidulans*  $\Delta amyD$  株と *A. nidulans*  $\Delta amyD$  *agtA<sup>OE</sup>* 株は、ほぼ同程度の AG 量を有していたことから、AG 分子量低下も菌糸

分散性に寄与することが示唆された。

(2)-②および *A. nidulans*  $\Delta amyD agtA^{OE}$  株の AG 分子量解析の結果より GPI アンカー型アミラーゼ AmyD および AgtA が AG 分子量を低下させる機能を有することが示唆されたが、直接的に分子量を低下させるのかは不明である。そこで、*P. pastris* で発現精製した麹菌 AgtA の酵素学的性質を解析した。その結果、AgtA は AG を加水分解せず、可溶性デンプンに対して弱い加水分解活性を示した。DP 4 以下のマルトオリゴ糖は分解出来なかった。糸状菌 AG の部分構造に類似する、非還元末端側に  $\alpha$ -1,4 結合のマルトテトラオースを還元末端側に  $\alpha$ -1,3 結合を 1 個有する Ma14 $\alpha$ 1,3Glc オリゴ糖 (DP5) への AgtA の切断パターンを解析したところ、AgtA は Ma14 $\alpha$ 1,3Glc のマルトテトラオース部分をランダムに加水分解し、 $\alpha$ -1,3 結合は切断しなかった [図 9, 10]。一方、マルトペンタオースは還元末端から 2 番目の 1,4 結合が特異的に切断された。DP5 でも切断様式が異なった。Ma14 $\alpha$ 1,3Glc は *Aspergillus* 属糸状菌の AG 中に  $\alpha$ -1,4 結合スペーサーと  $\alpha$ -1,3 結合グルカン鎖の境界領域構造と類似しており、AgtA や AmyD が糸状菌 AG 中のスペーサーマルトオリゴ糖を切断して、AG 分子量を低下させていると考えられた。

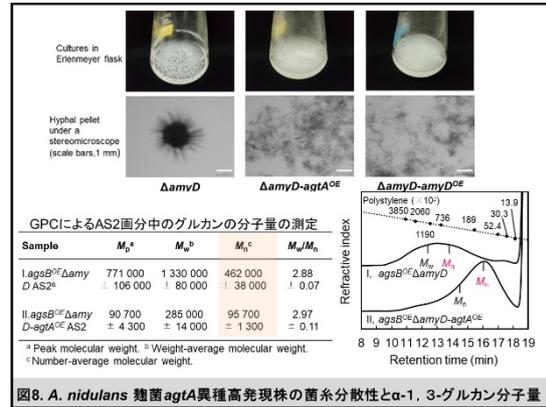


図8. *A. nidulans* 麹菌 *agtA* 異種高発現株の菌糸分散性と $\alpha$ -1,3-グルカン分子量

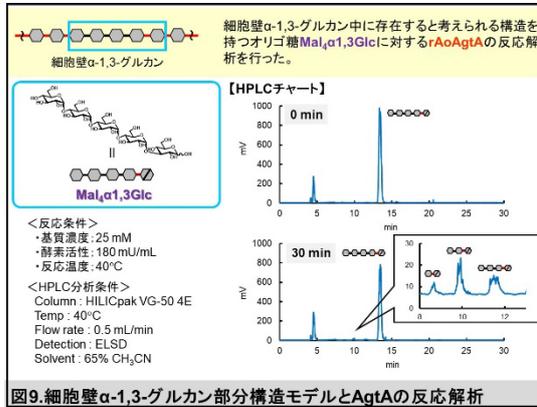


図9. 細胞壁 $\alpha$ -1,3-グルカン部分構造モデルとAgtAの反応解析

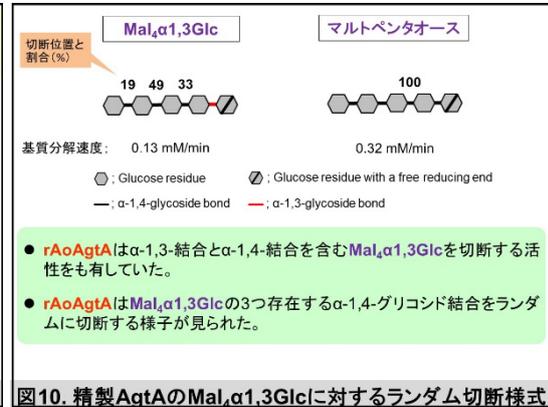
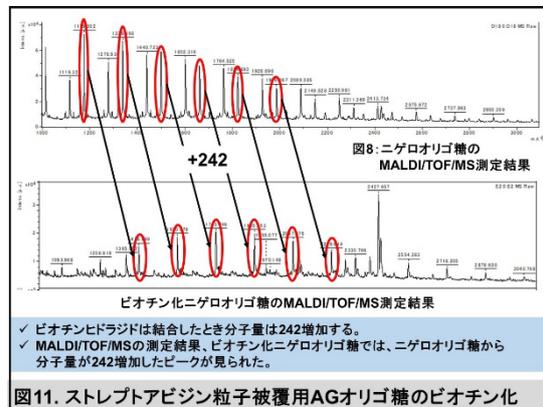


図10. 精製AgtAのMa14 $\alpha$ 1,3Glcに対するランダム切断様式

### (3) AG 被覆粒子を用いた AG 糖鎖相互作用解析手法の開発と AG 糖鎖凝集評価

AG 被覆粒子の作製では、適当な重合度 (DP6-15) の AG オリゴ糖の生産条件の確立と、AG オリゴ糖のビオチン化法の確立に手間取ったが、達成した。酵素合成 AG をアセトリシスでオリゴ糖化したことを HPLC で確認し、オリゴ糖のビオチン化を FT-IR、<sup>1</sup>H-NMR、MALDI-TOF MS にて確認した [図 11]。ビオチン化オリゴ糖をストレプトアビジン粒子に結合し、AG オリゴ糖被覆粒子を作製した。AG 被覆粒子はムタン (Mw>10 万) を添加した際に凝集性を示したことから、AG の凝集性評価が可能となった [図 12]。



### <引用文献>

① Yoshimi A. et al., *J. Fungi*, 3(4). pii E63 (2017) ; ② Miyazawa K. et al., *Frontiers Microbiol.* 10:2090 (2019) ; ③ Fujikawa T. et al., *Mol. Microbiol.* 73:553-570 (2009); ④ Gravelat F.N. et al., *PLOS Patho.* 9:e1003575 (2013) ; ⑤ Yoshimi A. et al., *PloS ONE* 8(1):e54893 (2013) ; ⑥ Miyazawa K. et al., *Frontiers Microbiol.* 9:2623 (2018) ; ⑦ He X. et al., *Mol. Microbiol.* 91:579-595 (2014) ; ⑧ Miyazawa K. et al., *Frontiers Fungal Biol.* 2:821946 (2022) ; ⑨ Koizumi A. et al., *Frontiers Fungal Biol.* 3:2022 (2023) ; ⑩ He X. et al., *Int. J. Mol. Sci.* 18:695 (2017) ; ⑪ Van der Kaaij et al., *Eukaryot. Cell* 6:1178-1188 (2013)

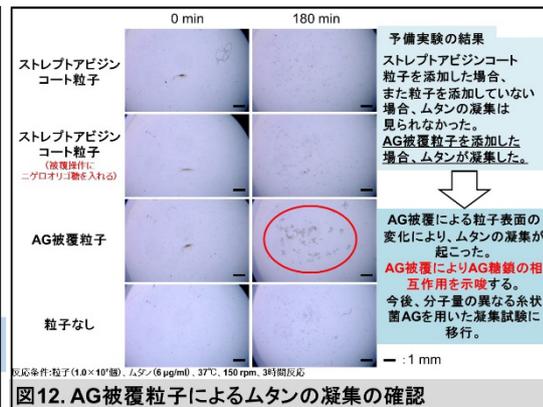


図12. AG被覆粒子によるムタンの凝集の確認

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6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 3件）

1. 著者名 Ichikawa H., Miyazawa K., Komeiji K., Susukida S., Zhang S., Mutto K., Orita R., Takeuchi A., Kamachi Y., Hitosugi M., Yoshimi Y., Shintani T., Kato Y., Abe K.*	4. 巻 133
2. 論文標題 Improved recombinant protein production in <i>Aspergillus oryzae</i> lacking both $\alpha$ -1,3-glucan and galactosaminogalactan in batch culture with a lab-scale bioreactor.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Biosci. Bioeng.	6. 最初と最後の頁 39-45
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jbiosc.2021.09.010	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 Miyazawa K., Yamashita T., Takeuchi A., Kamachi Y., Yoshimi A., Tashiro Y., Ami Koizumi A., Ogata M., Yano Y., Kasahara S., Sano M., Yamagata Y., Nakajima T., Abe K.*	4. 巻 2
2. 論文標題 A glycosylphosphatidylinositol-anchored $\alpha$ -amylase encoded by amyD contributes to a decrease in the molecular mass of cell wall $\alpha$ -1,3-glucan in <i>Aspergillus nidulans</i> .	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Fungal Biol.	6. 最初と最後の頁 821946
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/ffunb.2021.821946	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 Miyazawa K., Umeyama T., Hoshino Y., Abe K., Miyazaki Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Quantitative monitoring of mycelial growth of <i>Aspergillus fumigatus</i> in liquid culture by optical density.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 e0006321
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/spectrum.00063-21	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 Yoshimi A., Miyazawa K., Kawauchi M., and Abe K.	4. 巻 8
2. 論文標題 Cell Wall Integrity and its industrial applications in filamentous fungi.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Fungi	6. 最初と最後の頁 435
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jof8050435	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 Koizumi A, Miyazawa K, Ogata M, Takahashi Y, Yano S, Yoshimi A, Sano S, Hidaka M, Nihira T, Nakai H, Kimura S, Iwata T, Abe K*	4. 巻 3
2. 論文標題 Cleavage of $\alpha$ -1,4-glycosidic linkages by the glycosylphosphatidylinositol-anchored $\alpha$ -amylase AgtA decreases the molecular weight of cell wall $\alpha$ -1,3-glucan in <i>Aspergillus oryzae</i> .	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Fungal Biol.	6. 最初と最後の頁 1061841
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/ffunb.2022.1061841	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 阿部敬悦、吉見 啓、宮澤 拳	4. 巻 7
2. 論文標題 麹菌の菌系分散変異株を用いた有用物質生産	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 687-692
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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22件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 小泉亜未, 尾形慎, 矢野成和, 宮澤拳, 吉見啓, 佐野元昭, 日高将文, 仁平高則, 中井博之, 木村聡, 岩田忠久, 阿部敬悦
2. 発表標題 細胞壁 $\alpha$ -1,3-グルカン生合成に寄与する麹菌の $\alpha$ -アミラーゼAgtAの特性解析
3. 学会等名 第70回応用糖質科学学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 薄田隼弥, 武藤清明, 市川暉, 宮澤拳, 古明地敬介, 吉見啓, 加藤好一, 阿部敬悦
2. 発表標題 麹菌の菌系分散株における培養液粘度低下がもたらす生産性への影響
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 薄田隼弥, 武藤清明, 市川暉, 宮澤拳, 古明地敬介, 吉見啓, 加藤好一, 阿部敬悦
2. 発表標題 麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> 菌糸分散株の培養液混合特性とその酵素生産性への寄与
3. 学会等名 第20回糸状菌分子生物学コンファレンス
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮澤拳, 竹内歩, 小泉亜美, 吉見啓, 山形洋平, 阿部敬悦
2. 発表標題 <i>Aspergillus nidulans</i> の $\alpha$ -1,3-グルカン生合成における $\alpha$ -アミラーゼ AmyD の GPI アンカーの重要性
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石川健二、水戸光司、高橋哲也、山城寛、片瀬徹、小池田聡、片山琢也、丸山潤一、宮澤拳、吉見啓、阿部敬悦、山口庄太郎
2. 発表標題 麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> 菌糸分散変異株を用いた酵素生産性の評価
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 織田隆太郎, 宮澤拳, 吉見啓, 阿部敬悦
2. 発表標題 麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> の液体培養時における菌体への物理刺激がもたらす $\alpha$ -1,3-グルカン合成量への影響の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部敬悦
2. 発表標題 醸造微生物の細胞表層機能に関する生化学的研究とその産業応用
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 蒲池悠佳, 宮澤拳, 吉見啓, 日高將文, 中島佑, 阿部敬悦
2. 発表標題 Aspergillus nidulans の $\alpha$ -1,3-グルカン合成酵素による産生多糖の分子量制御機構の解析
3. 学会等名 糸状菌分子生物学研究会若手の会 第8回ワークショップ
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田代裕登, 宮澤拳, 山形洋平, 吉見啓, 阿部敬悦
2. 発表標題 In vitro $\alpha$ -1,3-グルカン (AG) 合成系の確立に向けたGFP融合AG合成酵素発現株の作製
3. 学会等名 糸状菌分子生物学研究会若手の会 第8回ワークショップ
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小泉亜未, 尾形慎, 矢野成和, 宮澤拳, 吉見啓, 佐野元昭, 日高將文, 仁平高則, 中井博之, 木村聡, 岩田忠久, 阿部敬悦
2. 発表標題 麹菌の細胞壁 $\alpha$ -1,3-グルカン生合成に関与する $\alpha$ -アミラーゼ、AgtAの特性解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 阿部敬悦
2. 発表標題 産業微生物の細胞表層機能の解明とその物質生産への応用展開
3. 学会等名 山口大学中高温微生物研究センター 発酵部門セミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 阿部敬悦
2. 発表標題 醸造微生物の細胞表層機能に関する生化学的研究とその産業応用
3. 学会等名 日本農芸化学会北海道・東北支部合同支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 薄田隼弥，武藤清明，市川暉，宮澤拳，吉見啓，加藤好一，阿部敬悦
2. 発表標題 麹菌菌糸分散株のジャー型発酵槽での液体培養における酸素移動度の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会北海道・東北支部合同支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 薄田隼弥，武藤清明，荒木聡馬，市川暉，宮澤拳，吉見啓，加藤好一，阿部敬悦
2. 発表標題 麹菌の液体培養における菌糸分散株の酸素移動度の改善がもたらす一次代謝への影響
3. 学会等名 日本生物工学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮澤拳, 梅山隆, 高塚翔吾, 村長保憲, 星野泰隆, 阿部雅広, 阿部敬悦, 宮崎義継
2. 発表標題 病原性糸状菌Aspergillus fumigatusの臨床分離株の表現型と細胞壁成分の比較解析
3. 学会等名 第21回糸状菌分子生物学コンファレンス
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 薄田隼弥, 武藤清明, 市川暉, 宮澤拳, 吉見啓, 加藤好一 熊谷俊高, 油谷幸代, 阿部敬悦
2. 発表標題 麹菌糸状菌の液体培養における酸素移動度と中央代謝経路の遺伝子発現変動の解析
3. 学会等名 日本生物工学会北日本支部2022年シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田代裕登, 蒲池悠佳, 宮澤拳, 吉見啓, 日高將文, 中島佑, 阿部敬悦
2. 発表標題 モデル糸状菌Aspergillus nidulansの -グルカン生合成における -グルカン合成酵素細胞外ドメインの機能解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小泉亜未, 宮澤拳, 尾形慎, 矢野成和, 吉見啓, 佐野元昭, 日高將文, 仁平高則, 中井博之, 木村聡, 岩田忠久, 阿部敬悦
2. 発表標題 麹菌の細胞壁 -1,3-グルカンの生合成を制御するGPIアンカー型 -アミラーゼAgtAの酵素学的及び生物学的機能の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Susukida S., Muto K., Ichikawa H., Miyazawa K., Yoshimi A., Kato K. Kumagai T., Aburatani S., Abe K.
2. 発表標題 Oxygen mass transfer effect on recombinant protein production by the hyphal dispersed <i>Aspergillus oryzae</i> mutant in the lab-scale fermentation.
3. 学会等名 Asperfest19 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Koizumi A., Miyazawa K., Ogata M., Yano S., Yoshimi A., Sano M., Abe K. *
2. 発表標題 Glycosylphosphatidylinositol-anchored $\alpha$ -amylase regulates the molecular weight of cell wall $\alpha$ -1,3-glucan in <i>Aspergillus</i> fungi.
3. 学会等名 ECFG16
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Koizumi A., Miyazawa K., Ogata M., Yano S., Yoshimi A., Sano M., Abe K. *
2. 発表標題 Regulation of molecular weight of cell wall $\alpha$ -1,3-glucan by GPI-anchored $\alpha$ -amylase in <i>Aspergilli</i> .
3. 学会等名 The 9th Global Network Forum on Infection and Immunity: Neo Mycology
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Miyazawa K., Umeyama T., Takatsuka S., Muraosa Y., Hoshino Y., Abe K., Miyazaki Y.
2. 発表標題 Analyses of function and biosynthesis of cell wall $\alpha$ -1,3-glucan in <i>Aspergillus fumigatus</i> .
3. 学会等名 The 9th Global Network Forum on Infection and Immunity: Neo Mycology
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 吉見啓, 宮澤拳, 阿部敬悦	4. 発行年 2021年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 515
3. 書名 糸状菌の菌系接着メカニズムの解析と有用物質高生産への応用, 「バイオリアクターのスケールアップと物質生産事例集」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

糸状菌の細胞表層構造の理解と その発酵生産への応用に関する研究 <a href="https://sites.google.com/view/tohoku-applied-microbio/%E3%83%9B%E3%83%BC%E3%83%A0">https://sites.google.com/view/tohoku-applied-microbio/%E3%83%9B%E3%83%BC%E3%83%A0</a> 糸状菌の細胞表層構造の理解と その発酵生産への応用に関する研究 <a href="https://sites.google.com/view/tohoku-applied-microbio">https://sites.google.com/view/tohoku-applied-microbio</a>
--

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
研究協力者	吉見 啓  (Yoshimi Akira)		

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
---------	---------