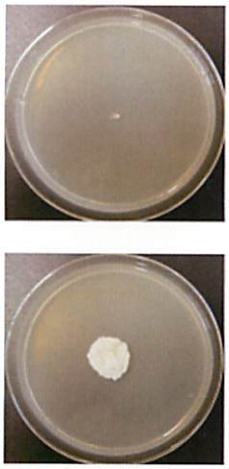
担子菌の遺伝子組換え法の開発と糖化酵素の強化

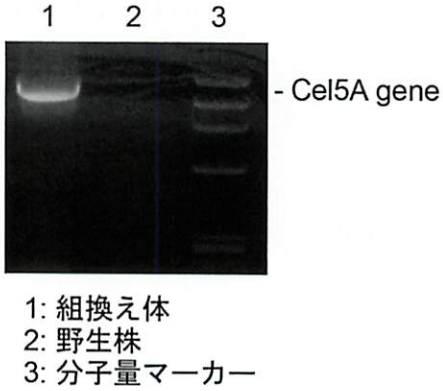
本研究課題は、優れたリグノセルロース分解能を有する担子菌が生産する酵素によりバイオマスを糖化し、更には担子菌の発酵能を利用することで、whole crop からエタノールを直接発酵する技術を開発することを目指している。そのために必要な組換え技術の開発および種々の酵素遺伝子の取得を試みた。その結果、リグニン分解酵素およびセルロース分解酵素を構成的に生産する担子菌 *Coprinopsis cinerea* を作出することに成功した。また、種々の分解酵素遺伝子を取得することに成功した。

1. CcCel5A を構成的に生産する菌株の作出

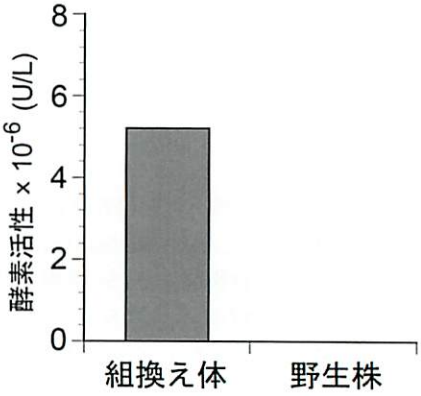
whole crop は、細胞壁多糖類に加え、デンプンなどの代謝されやすい糖類を含むことから、担子菌の細胞壁多糖類分解酵素の生産は遺伝子発現レベルで抑制される。よって、この抑制機構に制御されないようなセルラーゼ生産機構を持つエノキタケを作出することを目的として研究を行い、グルコース抑制を受けずに構成的にセルラーゼ（CcCel5A）を生産する菌株を作出することに成功した。



組換え体の選抜



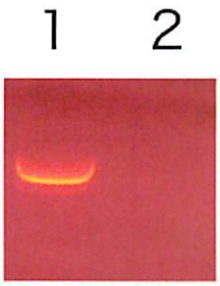
組換え体の PCR による確認



組換え体と野生株のグルコース培地における CMC 分解酵素活性

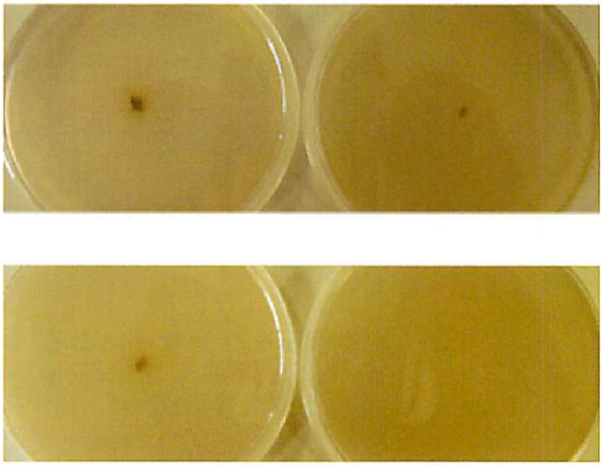
2. リグニン分解酵素（ラッカーゼ）を構成的に生産する菌株の作出

担子菌 *Coprinopsis cinerea* からリグニン分解に関わることが示唆されているラッカーゼ遺伝子（CcLcc3）をクローニングすることに成功した。この遺伝子を担子菌 *C. cinerea* において構成的に発現させるため、本菌の組換えを行った結果、CcLcc3 遺伝子を構成的に発現させることに成功した。



1: 組換え体
2: 野生株

組換え体の PCR による確認



組換え体と野生株を用いたバーベンダム反応

主な研究発表業績

1. 吉田　誠, 中田裕治, 金子　哲, 福田清春：腐生担子菌 Coprinus cinereus のセルロース分解時に発現が誘導される遺伝子. 木材保存. 34 (6)：269-280 (2008).
2. Makoto Yoshida, Kan Sato, Satoshi Kaneko and Kiyoharu Fukuda: Cloning and transcript analysis of multiple genes encoding the glycoside hydrolase family 6 enzyme from *Coprinopsis cinerea*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 73(1):67-73 (2009).
3. Yuma Kurakata, Takashi Tonozuka, Yuan Liu, Satoshi Kaneko, Atsushi Nishikawa, Kiyoharu Fukuda and Makoto Yoshida: Heterologous expression, crystallization and preliminary X-ray characterization of CcCel6C, a glycoside hydrolase family 6 enzyme from the basidiomycete *Coprinopsis cinerea*. Acta Crystallographica Section F. 65:140-143 (2009).
4. Yuan Liu, Kiyohiko Igarashi, Satoshi Kaneko, Takashi Tonozuka, Masahiro Samejima, Kiyoharu Fukuda and Makoto Yoshida: Characterization of glycoside hydrolase family 6 enzymes from *Coprinopsis cinerea*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 73 (6):1432-1434 (2009).

■東京農工大学 大学院農学研究院
吉田　誠

■ C022、代謝工学による whole crop の直接発酵に適した担子菌の開発

吉田　誠（東京農工大学）
■ TEL：042-367-5252
■ E-mail：ymakoto@cc.tuat.ac.jp