

Distinct functions of the hydrophobins in cell wall structure formation and wood degradation in the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*

(白色腐朽菌ヒラタケのハイドロフォビンが持つ細胞壁形成および  
木材分解における個別的役割)

韓 浚弦

ハイドロフォビンは、真菌類から分泌されるタンパク質であり、主に菌糸の表面に存在し、気中菌糸の形成に寄与することが知られている。白色腐朽菌は担子菌門に属し、木材中の難分解性のリグニンを含む植物細胞壁成分を完全に分解可能な唯一の生物群である。白色腐朽菌ヒラタケは、20 以上のハイドロフォビン遺伝子を持つことが推定されるが、木材分解条件や実験室生育条件では *vmh2*、*vmh3* 及び *hydph16* の 3 つが独占的に発現している。これらの遺伝子産物が栄養菌糸の成長段階において重要な役割を担っている可能性を示唆している。本研究の目的は、ヒラタケにおける主要な 3 つのハイドロフォビン (*Vmh2*、*Vmh3*、*Hydph16*) の菌糸成長、環境ストレス応答、木材分解などにおける生理的機能を明らかにすることである。

第 1 章では、栄養菌糸体において高発現する 2 つのハイドロフォビン、*Vmh2* および *Vmh3* の機能解析を行った。菌糸表面構造およびストレス応答におけるそれらの役割を明らかにするため、単独および二重遺伝子破壊株を作製して解析を行った。その結果、*Vmh2* および *Vmh3* の両方が菌糸の疎水性維持に関与していることが明らかとなった。一方で、酸化ストレス条件に対する感受性に影響を及ぼしたのは *vmh3* の破壊株のみであった。これらの結果は、この 2 つのハイドロフォビンが菌糸の表面疎水性に寄与する一方で、酸化ストレス耐性に関しては異なる役割を持つことを示唆している。

第 2 章では、ハイドロフォビン *Hydph16* の機能と菌糸細胞壁との関連性に着目した。*hydph16* 破壊株では、*vmh2* および *vmh3* 破壊株に比べて気中菌糸の形成が著しく減少したが、菌糸の疎水性は低下せず、細胞壁ストレスに対して高い感受性を示した。また、*hydph16* 破壊株の細胞壁厚は野生株と比較して 40%減少していたが、細胞壁成分であるキチンや  $\beta$  グルカンの相対含有量、細胞壁合成関連遺伝子の発現レベルには有意な差は認められなかった。これらの結果から、*Hydph16* は本菌の細胞壁形成において本質的な役割を果たしていることが示唆された。なお、担子菌類は子囊菌類と比較してより多くのハイドロフォビン遺伝子を有しており、本研究は、担子菌類が進化の過程で複雑な生活環に適応するために、ハイドロフォビンの機能を多様化させてきた可能性を支持するものである。

第 3 章では、木材分解における 3 つの主要なハイドロフォビンの機能的役割について解析を行った。*vmh3* および *hydph16* の破壊株では、リグニン分解の進行が有意に遅延したが、菌体外に分泌されるリグニン分解酵素類の活性自体には低下が見られなかった。*hydph16* 破壊株ではブナ木粉培地上での菌糸成長の低下が見られ、これがリグニン分解が遅延するこ

との原因と考えられた一方、*vmh3*破壊株ではそのような成長障害は認められず、Vmh3の欠損によってリグニン分解に遅延が生じたことが明らかにされた。この結果は、ハイドロフォビンが白色腐朽菌による木材分解に関与する可能性を世界で初めて示したものである。

第4章では、3つのハイドロフォビン遺伝子破壊株における転写プロファイルの変化をRNA-seq解析により評価した。その結果、ハイドロフォビン遺伝子の破壊は全体的な転写プロファイルに大きな影響を及ぼさないこと、主要ハイドロフォビン遺伝子の破壊による他のハイドロフォビン遺伝子の発現変化は観察されず、個別の機能が相補されていないことを示している。これらの結果より、第1-3章で観察された各ハイドロフォビン遺伝子破壊株の表現型は、それぞれのハイドロフォビンが担う独立かつ非相補的な役割の欠損によるものであることが明らかとなった。

本研究は、本菌における3つの主要なハイドロフォビンが機能冗長な単なる両親媒性の表層タンパク質ではなく、それぞれに特異的な機能を持つ分子であることを明らかにしたものである。