

日本菌学会第45回大会 講演要旨集

Abstracts of Papers Presented at
the 45th Annual Meeting of
the Mycological Society of Japan

2001年5月19日（土）・20日（日）
日本獣医畜産大学（東京）
主催 日本菌学会

May 19-20, 2001
Tokyo, Japan

The Mycological Society of Japan

B-19

白色腐朽菌エノキタケの菌糸体生長と子実体形成における炭素代謝
尹 昶俊¹⁾・宮宗秀伸¹⁾・E. Munir¹⁾・服部武文¹⁾・寺下隆夫²⁾・島田幹夫¹⁾
(¹⁾ 京大木研; ²⁾ 近大農)

Carbon metabolism during growth and development of mycelium and fruit-bodies
in white-rot fungus, *Flammulina velutipes* by J. Yoon¹⁾, H. Miyasou¹⁾, E. Munir¹⁾,
T. Hattori¹⁾, T. Terashita²⁾ and M. Shimada¹⁾
(¹⁾ Wood Research Institute, Kyoto Univ.; ²⁾ Fac. of Agr., Kinki Univ.)

当研究室では、木材腐朽菌オオウズラタケ (*Fomitopsis palustris*) の菌糸体においてシュウ酸生成とグリ
オキシル酸回路が重要な役割を果たしている事を報告してきた。そこで我々は、炭素代謝研究の一環として子実
体が形成される際、グリオキシル酸回路と関連する代謝経路における鍵酵素の変動を調べて子実体形成過程に
おいて関係酵素がどのような役割を果たしているのかを解明する事を研究の目的とした。今回の研究に用いた腐
朽菌は、子実体が出来やすく培養系が確立されているエノキタケ (*Flammulina velutipes*) を用いて実験を
行った。*F. velutipes* 7777 株をジャガイモグルコース液体培地で 25℃、暗所で 14 日間培養し、原基が見え始
めてから 17℃、明所 (50~200 lux) で培養を続けて、子実体を形成させ、各段階におけるグリオキシル酸回
路の鍵酵素であるイソクエン酸リアーゼ (ICL) とリンゴ酸合成酵素 (MS)、TCA 回路の鍵酵素であるイソ
クエン酸脱水素酵素 (ICDH)、糖新生の鍵酵素であるホスホエノールピルベート カルボキシキナーゼ
(PEPCK) とフルクトース 1,6 ビスホスファターゼ (FBPase)、そして GABA 経路の主要酵素であるグルタ
ミン酸脱水素酵素 (NAD(P)-GLDH) と γ -aminobutyrate transaminase (GABAT) の酵素活性の変動を調べた。
その結果、原基が形成される段階からグリオキシル酸回路の両酵素活性の増加と糖新生の鍵酵素である
FBPase の酵素活性増加が菌糸体において著しく見られた。又、子実体形成段階においても菌糸体中でその酵
素活性の増加がみられた。このことから子実体形成の際に炭素源の供給が重要であり、炭素源を供給するた
めにグリオキシル酸回路が補充経路として作用しているのではないかと考えられる。一方、TCA 回路の鍵酵素
である ICDH の酵素活性は、菌糸体においては増加したものの原基と子実体においては減少がみられた。し
かし、 α -ketoglutarate dehydrogenase (α -KGDH) の酵素活性は、どの段階においても検出されていなかった
事からこのような担子菌では従来型の TCA 回路は機能していない事が確認された。また、NADP-GLDH の
酵素活性は、菌糸体、原基、子実体においても増加が見られたが、NAD-GLDH の酵素活性は低下して成
熟子実体の傘の部分ではほとんど検出されなかった。このことから Moore らが提案しているように従来型の
TCA 回路に代わって GABA 経路とグリオキシル酸回路が炭素代謝に重要な役割を果たしていることが示唆され
た。

B-20

マツタケの生産する菌体外 α -アミラーゼの精製と性質

楠田瑞穂・小宮山亜希子・永井勝・坂井拓夫・寺下隆夫 (近畿大・農・食米)

Purification and characterization of extracellular α -amylase from *Tricholoma matsutake*

by M. Kusuda, A. Komiya, M. Nagai, T. Sakai, and T. Terashita (Dept. of Food and Nutrition
Fac. of Agric., Kinki Univ.)

デンプンはマツタケにとって利用可能な数少ない多糖類の一つであるが、基質の利用様式を酵素の性質や基質特
異性の面から検討した報告はほとんどない。そこで、マツタケ改変液体培地に *Tricholoma matsutake* Z-1 株を接種
し、80 日間、24℃で培養し、生産酵素を検討した。その結果、本菌は菌体外に弱いアミラーゼを生産し、その活
性は菌糸の生育に伴って上昇した。本培養液中には α -アミラーゼのほか、グルコアミラーゼおよび α -グルコシダ
ーゼと思われる活性が存在した。精製は活性の高い培養 80 日目の静置培養ろ液 (マイエルプラスコ 300 本分) を
試料に、硫酸分画、各種カラムクロマトにより精製し、電気的に均一な酵素蛋白質バンドを得た。精製倍率は 3,580
倍、収率は 10.5%であった。活性至適 pH は 5.5、pH 4~10 の範囲で安定で、至適温度は 60℃付近、温度処理に
は 50℃まで熱安定性を示した。分子量はゲルろ過では約 34kDa、SDS-PAGE においては約 46kDa であった。可溶
性デンプンを基質とし、オストワルド粘度計で分解様式を調べたところ α -型 (液化型) のアミラーゼであった。
可溶性澱粉の分解率を 100%とした相対活性はアミロース (MW=16000) が 90%と高かったが、プルラン、デキ
ストリン、グリコーゲンではそれぞれ 0%、2.22%、10.5%を示し、精製酵素が α -1,4 結合を切断することが推察
された。また、Km 値 (可溶性デンプン) は 0.0689%であった。マツタケ菌においては今回精製した α -アミラー
ゼが主要酵素と思われるが、実際のデンプン分解では未精製のグルコアミラーゼおよび α -グルコシダーゼと共同
して作用することから、残る酵素の精製が必要である。