

**京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書**

2019年 4月 10日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所 属 部 局 農学研究科

職 名 助教

氏 名 中沢 威人

助 成 の 種 類	平成30年度 ・ 研究活動推進助成			
申請時の科研費 研究課題名	エピジェネティック制御を通した、リグニンおよび多糖分解モードのスイッチング			
上記以外で助成金を 充当した 研究内容	ヒラタケのリグニン分解不全変異株において転写が顕著に活性化する遺伝子上流領域のヒストン修飾状態の解析			
助成金充当に関 わる共同研究者	(所属・職名・氏名) なし			
発表学会文献等	(この研究成果を発表した学会・文献等) 第69回日本木材学会大会			
成 果 の 概 要	<ul style="list-style-type: none"> ・ 白色腐朽菌ヒラタケを用いて、クロマチン免疫沈降実験を行なった ・ リグニン分解不全によって顕著に転写活性化するセルロース分解系酵素遺伝子の5'上流領域において、修飾ヒストン(H3K4ジメチル化修飾)の分布密度の増加が示された 			
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,000,000 円		
	使用した助成金額	1,000,000 円		
	返納すべき助成金額	0 円		
	助成金の使途内訳	費 目	金 額	
		物品費(消耗品など)	754,000	
		次世代シーケンス外注費用	246,000	
当財団の助成に ついて	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) この度は、誠にありがとうございました。おかげさまで、科研費も採択されました。			

成果の概要（中沢威人）

木材は、多糖であるセルロース・ヘミセルロースと芳香族高分子であるリグニンが、複雑に絡み合った構造から形成されており、生物分解に対する高い抵抗性を有している。多くの“きのこ”を含む担子菌の一部である木材腐朽菌は、この複雑な木材を効率よく分解可能な生物である。森林生態系における“分解者”として、炭素循環に重要な役割を果たしている。特に、この木材腐朽菌の一部である“白色腐朽菌”は、木材中のリグニンを単独で効率よく分解可能な生物である。しかし、この白色腐朽菌によるリグニン分解の分子機構については、詳しく分かっていない。

代表者らによる先行研究では、白色腐朽菌ヒラタケを用いた分子遺伝学研究を行なった。リグニン分解能力が著しく低下したヒラタケの突然変異体を獲得し、最終的には、これらの変異体の原因遺伝子変異を多数同定した。結果として、クロマチン構造変換因子をコードすると考えられる遺伝子が、原因変異として多く同定された。ヒラタケ野生株とリグニン分解不全変異株との間で、比較 RNA-seq 解析を行なった結果、これらの遺伝子変異（および破壊）は、推定上のリグニン分解酵素遺伝子群の転写不活性化と同時に、推定上の多糖（特にセルロース）分解酵素遺伝子群を顕著に転写活性化させることが明らかとなった。以上の結果からは、クロマチン構造の変化によって、木材中の主要成分であるリグニンおよび多糖の分解モードをダイナミックにスイッチさせる転写調節機構の存在が示唆された。クロマチン構造変換によって、例えばヒストンの分布および修飾状態が大きく変化する可能性が考えられる。本研究の目的は、クロマチン免疫沈降法（ChIP）を行うことで、リグニン分解不全をきたす遺伝子変異が、木質分解酵素遺伝子群上流領域のヒストン修飾状態に及ぼす影響を調査することである。

まず、他生物種において ChIP 実験に使用可能なヒストン H3 およびその修飾ヒストンを認識する抗体を 4 種類購入し、ヒラタケ菌糸細胞全タンパク質を用いたウエスタン解析を行なった。この際、ヒラタケ野生株は、上述の比較 RNA-seq 解析を行なった場合と同様に、脱脂ブナ木粉培地上で 13 日間静置培養したサンプルを用いた。その結果、ヒストン H3 およびその 4 番目のリジン残基が *N*-ジメチル化された修飾ヒストン（H3K4DiMe）を認識する抗体が、ヒラタケで使用可能であることが判明した。続いて、この 2 つの抗体を用いて、ChIP 解析を行なった。その結果、2 種類のリグニン分解不全変異株（*hirA* 破壊株および *gat1* 破壊株）において、幾つかのセルロース分解系酵素遺伝子の上流領域の H3K4DiMe の密度が増加していることが判明した。

この結果を踏まえて申請した、平成 31 年（令和元年）度の科研費・基盤研究 B が採択さ

れた。今後は、上記の研究をさらに拡大して行なっていく予定である。御財団には大変お世話になりました。今後ともよろしく願いたします。