 総 説

[木材学会誌 Vol. 65, No. 4, p. 173-188 (2019)]

ゲノム情報解析で明らかとなった多様な木材腐朽菌の 起源と進化^{*1}

堀 千明^{*2}, 吉田 誠^{*3}, 五十嵐圭日子^{*4, *5}, 鮫島正浩^{*4, *6}

Origin and Diversity of Wood Decay Fungi Revealed by Genome-Based Analyses^{*1}

Chiaki HORI^{*2}, Makoto YOSHIDA^{*3},
Kiyohiko IGARASHI^{*4, *5} and Masahiro SAMEJIMA^{*4, *6}

Wood decay fungi can efficiently decompose and metabolize recalcitrant plant cell walls, which consist of cellulose, hemicellulose and lignin. Their unique degradation processes and related enzymes have been extensively studied toward various industrial and environmental applications. The recent advances in DNA sequencing technologies and informatics have made more than 250 fungal genomes publicly available, and enabled comparative omics analyses to provide new insights regarding diversity of fungal wood degradation processes, their origins and evolutions. In this review, at first, the background of wood decay types and related enzymes was summarized, and then new insights on the molecular mechanism of the diversity of wood degradation by both white-rot and brown-rot fungi as disclosed from the current comparative genome analyses were presented. Moreover, the origin and evolutions of wood decay fungi based on molecular clock analyses were discussed.

Keywords: wood decay fungi, wood degradation, genome analyses.

木材腐朽菌は植物細胞壁の主要成分（セルロース・ヘミセルロース・リグニン）を効率的に分解する。この特徴的な分解能力やその機能を担う酵素について、これまで様々な応用を見据えて精力的に研究がなされてきた。最近では次世代シーケンサーの登場により、すでに250種以上の菌類のゲノム情報が取得され、それに基づく多様な腐朽菌が保有する木材分解メカニズムの解析について新しい知見が報告されている。本稿では、まず腐朽菌による木材分解現象に関するこれまでの研究の経緯を説明した上で、最近の比較オミックス解析で明らかにされた腐朽形態の違いの要因となる分子メカニズムについて紹介し、さらに分子時計解析から見てきた木材腐朽菌の起源や進化について考察を行った。

^{*1} Received March 12, 2019; accepted May 29, 2019.

^{*2} 北海道大学工学研究院 Research Faculty of Engineering, Hokkaido University, Sapporo 060-8628, Japan

^{*3} 東京農工大学農学部 Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo 183-8509, Japan

^{*4} 東京大学大学院農学生命科学研究科 Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113-8657, Japan

^{*5} VTT フィンランド技術研究センター VTT Technical Research Centre of Finland, Tietotie 2, Espoo FI-02044 VTT, Finland

^{*6} 信州大学工学部 Faculty of Engineering, Shinshu University, Nagano 380-8553, Japan

Corresponding author: M. Samejima (amsam@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp)

1. はじめに

次世代シーケンサーの登場により生物学研究の流れは一変した。酵素を初めとするタンパク質のアミノ酸配列の全てが格納されている全ゲノム配列を解読することが簡便な事となり、様々な生物においてゲノム情報を取得することが一般化された。また、取得したゲノム情報に基づきオミックス解析（ゲノミクス・トランスクリプトミクス・プロテオミクス・メタボロミクス）または比較オミックス解析を行うことにより、生物や生物コミュニティをそれらが保有する遺伝子や酵素等の構成と制御による分子メカニズムとして包括的に理解することが可能となった。さらに、アミノ酸配列情報の蓄積は酵素の分子系統解析を推進し、これまで形態や機能などの表現型に基づいて予想されていた生物の進化の道筋が、比較ゲノム解析から導かれる分子進化（祖先や分岐）に基づいて説明されるようになった。

この研究の流れは木材腐朽菌に対しても例外ではなく、ゲノム配列情報をベースとした研究は活発化している。2004年に木材腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium* の全ゲノム配列情報が開示されたことに始まり¹⁾、各木材腐朽菌による木材の分解がどのような分子メカニズムにより成り立っているのかについて明らかとなった²⁾。さらに、2012年には31種の菌類ゲノムを解析することから木材腐朽菌の起源や進化が明らかになった³⁾。その後、1000種類の菌類ゲノムの解読を目指したプロジェクトが米国エネルギー省傘下の Joint Genome Institute を中心に推進され⁴⁾、ごく最近では植物・菌類の進化上の関わり合いという雄大なストーリーが分子進化に基づいて語られるに至っている⁵⁾。また、自然環境下で生じる木材腐朽現象についても、多数の微生物から生産される様々な酵素が相互作用することにより成り立っていることがオミックス解析により明らかにされた⁶⁾。

これまでに木材腐朽に関わる多くの研究者が手掛けた膨大な研究から、木材腐朽菌の生態・腐朽型・樹種選択性・成分変化・代謝学・酵素学・遺伝子発現などの特性が明らかにされてきた。この分野にゲノム情報解析を導入することで、木材腐朽菌が関与する多様な腐朽現象について分子メカニズムと関連付けて説明することが可能となったと言える。このような背景を受けて、本稿では、まず木材腐朽菌による腐朽現象に関する歴史的な研究の経緯を振り返って説明した上で、最近の研究で明らかにされたゲノムワイドな酵素遺伝子情報に基づき、腐朽形態の

違いの要因となる分子メカニズムと木材腐朽菌の分類との関連性について紹介する。さらに最近になって大規模なゲノム情報データを統合的に解析することで見えてきた木材腐朽菌の起源や進化などについて考察したい。

2. 木材腐朽形態に基づく腐朽菌の分類に関する歴史

微生物学の歴史を遡ると、19世紀は Louis Pasteur や Robert Koch 等による近代細菌学のめざましい幕開けの時期であるが、これは木材腐朽の分野における菌学についても同様である。その中でも、ドイツの林学者 Hartig 父子が果たした功績は大きい (Fig. 1)。1832年には、Theodor Hartig が、顕微鏡によって腐朽木材の中に菌糸が存在することを初めて観察したとの記載がある⁷⁾。また、彼の息子であり、当時、ドイツのエーベルヴェルデ王立林学アカデミーの教授であった Robert Hartig が1878年に公表した著書 “Die Zersetzungerscheinungen des Holzes der Nadelholzbäume und der Eiche in Forstlicher Botanischer und Chemischer Richtung (森林植物学および化学の視点で捉えた針葉樹材および樫材の腐朽現象)” では、木の樹種と菌種ならびに腐朽パターン等の関係性についての詳細な観察が樹木病理学の位置付けから報告されている⁸⁾。その中には、腐朽した木材の色に基づく「白色腐朽 (Weissfäule)」と「赤色腐朽 (Rothfäule)」という記載もなされており、さらに腐朽菌 (Fäuleschimmel) という言葉も用いられている。その後、これら木材腐朽菌の大部分は担子菌 (Basidiomycetes) に属することが明らかにされ、それぞれ白色腐朽菌 (white-

Fig. 1. History of researches on wood decay fungi.

rot fungi) と褐色腐朽菌 (brown-rot fungi) へと呼ばれるようになった。また、1881年には、Brefeld によって木材腐朽菌の純粋培養の成功が初めて報告され⁹⁾、実験室内で単一の菌を用いて木材を腐朽させることが可能となった。

20世紀に入ると、Hubert によって腐朽材の色や物性、さらに腐朽が発生した部位等に基づいて木材腐朽が体系的にまとめられ¹⁰⁾、1928年には腐朽菌を没食子酸やタンニン酸を含む培地で培養した際の培地の着色状況の差違、すなわち「Bavendamm 反応」による白色腐朽菌と褐色腐朽菌の分類が報告された¹¹⁾。この研究は、現在では例外となる菌が多いことが分かり分類には適切とは言えないが、木材腐朽菌が生産する酵素の生化学的反応に着目していることから、木材腐朽における酵素学の原点と言える。また、1946年には、Cartwright と Findlay により、樹種や木材がおかれた環境による木材腐朽の違い、保管や流通の過程での木材腐朽、さらに木造家屋や建築物等での木材腐朽等について、包括的な記載がなされた¹²⁾。このように、19世紀における木材腐朽研究が樹木病理学的な立場であったのに対して、20世紀になると木材を利用していく上での木材保存学的な立場での研究に進展していることが大きな変化である。その結果、木材の濡れ具合（含水率）に基づく腐朽の分類として、自然界での腐朽に対して、木造家屋などでの乾燥木材での腐朽に対する乾腐 (dry-rot) という概念等も導入された¹³⁾。また、腐朽する木材の樹種選択性に関する研究も進み、褐色腐朽菌は針葉樹を、白色腐朽菌は広葉樹を好んで分解するという傾向が一般化されていった。また、木材細胞壁の劣化形態については、白色腐朽菌の場合は木材細胞の内腔に存在する菌糸の周辺から細胞壁を浸食するように劣化を進行させるのに対して、褐色腐朽菌の場合は菌糸とは離れた位置にある細胞壁内部から劣化が進行するといった両者の腐朽材による木材細胞壁の劣化形態による違いについても報告された¹⁴⁾。

さらに、このような腐朽材の顕微鏡観察に加えて、腐朽材の細胞壁構成成分の化学分析に基づく白色腐朽菌と褐色腐朽菌による分解の違いについても次々

に報告されていった。白色腐朽菌においては、腐朽の進行に伴って、ヘミセルロース、セルロース、リグニンがほぼ併行して減少することの特徴としている^{15, 16)}。一方、褐色腐朽菌においては、ヘミセルロースの分解に引き続き、セルロースも減少するが、リグニンについては構造の一部が酸化されて褐色化するものの、分析上の定量値としては大きな減少を伴わず固体のままリグニンは残存することの特徴とする^{15, 16)}。また、腐朽を受けた木材中に残存するセルロースの重合度については、白色腐朽菌においては緩やかに減少させるが、これに対して、褐色腐朽菌においては、腐朽の初期段階から著しい重合度低下を引き起こし褐色腐朽菌は白色腐朽菌と比較して木材の著しい強度劣化を引き起こす原因となる¹⁵⁾。以上のような細胞壁構成成分に関する化学分析結果を統合的に評価する白色腐朽菌と褐色腐朽菌の分類 (Table 1) は、歴史の中で一般化されて、現在に至っている。

なお、このような白色腐朽と褐色腐朽に加えて、軟腐朽 (soft-rot) と呼ばれる細胞壁に空洞を形成する新たなタイプの木材腐朽が Savory によって報告され、その原因となる菌は子囊菌 (Ascomycetes) であることが示された¹⁷⁾。これにより、現在、木材腐朽の形態については、白色腐朽、褐色腐朽および軟腐朽に分類されているが、本稿においては、木材腐朽の主要原因である担子菌類による白色腐朽と褐色腐朽についてのみ、さらに言及を進めることとする。

20世紀後半になると生化学的な手法の進展とともに、木材腐朽菌が生産する植物成分分解酵素の研究が盛んとなり、多様な酵素をコードする遺伝子についてクローニング・塩基配列解析され、酵素全長の推定アミノ酸配列情報が蓄積された。また、それと併行して、特定の腐朽菌を選択し、その腐朽菌による木材腐朽の分子メカニズムの解明へと変化したため、自然界における腐朽菌の生態よりも、実験室内において人工的に作られた純粋培養系で腐朽菌が生産する木材腐朽に関わる分解酵素の種類や機能を明らかにすることへと興味に移っていった。このような分子メカニズムに関する研究の動きは、遺伝子工

Table 1. Wood decay types and features.

	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
White-rot fungi	Degradable	Degradable	Degradable
Brown-rot fungi	Amorphous cellulose degradable (Rapid depolymerization)	Degradable	Partially degradable

学手法の発展により加速され、その技術的な延長線上に全ゲノム配列情報の解析が誕生した。

3. 木材腐朽菌が分泌する植物細胞壁の分解に関わる酵素

木材腐朽菌は菌体外に様々な種類の植物成分分解酵素を分泌し、相乗的に作用させることで、植物細胞壁からリグニンなどを取り除き、セルロース分解から生じた低分子糖を栄養源として取得している。白色腐朽菌を特徴付けるリグニン分解については、白色腐朽菌のモデル菌である *Phanerochaete chrysosporium* がリグニン関連化合物を分解する実験室内での培養条件を検討し、その分解生成物の同定などについて精力的に研究が行われた。その結果、1983年には、非フェノール性二量体リグニンモデル化合物の $C\alpha-C\beta$ 結合や $\beta-O-4$ 結合の開裂を触媒できるリグニンペルオキシダーゼ (lignin peroxidase: LiP) の発見に繋がった^{18, 19)}。LiP の発見に続いて、マンガンをメディエータとしてリグニン関連化合物を分解するマンガン依存性ペルオキシダーゼ (Manganese-dependent peroxidase: MnP) が発見され²⁰⁾、MnP が LiP よりも白色腐朽菌により広く普遍的に存在する酵素であることが明らかにされていった。さらに、LiP と MnP の両面性を備え併せたペルオキシダーゼ (versatile peroxidase: VP) も後に見つかった²¹⁾。これら3種のリグニン分解に関与する酸化力の高いペルオキシダーゼは、現在、クラス II ペルオキシダーゼ (peroxidase, POD) として分類されている²²⁾。また、ペルオキシダーゼに過酸化水素を供与する酵素の候補として、アリルアルコール酸化酵素 (AAO) 等のグルコース・メタノール・コリン (GMC) 酸化酵素やグリオキサール酸化酵素 (GLOX) が次々と明らかにされていった (Table 2)。これらリグニン分解酵素についての詳細は総説を参照いただきたい²³⁻²⁵⁾。

褐色腐朽菌はリグニンの部分分解を行うだけで木材を腐朽することから、白色腐朽菌とは大きく異なる分解機構を有していると考えられてきた。そのような中で、非酵素的酸化分解による木材分解機構について多くの研究が報告され、議論されてきた (Fig. 2A)。褐色腐朽菌の木材分解にはフェントン反応で生じる水酸化ラジカル ($\cdot OH$) が関与することを示唆され^{26, 27)}、その後もジメチルヒドロキノン (2, 5-DMHQ) が活性酸素種 (ROS) 生成、さらにはセルロースの重合度低下に関与していると報告された²⁸⁾。また、榎らは、低分子グリコペプチドがヒドロキシラジカル形成に重要な役割を果たしている指摘している²⁹⁾。その後もフェントン反応に必要となる鉄イオンはシュウ酸によってキレートされて運ばれている可能性や、鉄イオンの還元剤として芳香族化合物などが関連していること (錯体介在フェントン反応と呼ばれている)、ベンゾキノン還元酵素 (BQR または QRD) がその redox cycling に関わっている可能性などその詳細が次第に明らかとなりつつある³⁰⁻³²⁾。

一方セルロース分解に関わる酵素については、1980年頃になるとセルロース分解性糸状菌 *Trichoderma reesei* (子囊菌) が生産するセルラーゼを中心に生化学的な解析が進んだ。セルロース分子鎖の加水分解を触媒するセルラーゼは、結晶性セルロースに作用しセロビオースを主要な生成物として切り出すセロビオヒドロラーゼ (CBH) と、主に

Table 2. Lignin-degrading enzymes produced by wood decay fungi.

CAZy family	Functions	Features	Comments
AA2	Lignin peroxidase (LiP)	none aromatic compounds and veratryl alcohol (Class II POD)	$2\text{veratryl alcohol} + 2\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{veratryl alcohol}^* + 2\text{H}_2\text{O}$
AA2	Mn-dependent Peroxidase (MnP)	Mn-mediated cleavage of lignin-related compounds (Class II POD)	$2\text{Mn}^{2+} + 2\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{Mn}^{3+} + 2\text{H}_2\text{O}$
AA2	Versatile peroxidase (VP)	Both functions of LiP and MnP (class II POD)	
AA5_1	Glyoxal oxidase (GLOX)	Supplying peroxide to peroxidase	$\text{OHC-CHO} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{OHC-COOH} + \text{H}_2\text{O}_2$
AA3_2	Aryl alcohol oxidase (AOX)	Supplying peroxide to peroxidase (GMC oxidoreductase)	$\text{R-OH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{R-CHO} + \text{H}_2\text{O}_2$ R = Aromatic ring
AA1_1	Laccase (Lac)	Oxidation of phenolics	$4\text{Benzenediol} + \text{O}_2 \rightarrow 4\text{Benzosemiquinone} + 2\text{H}_2\text{O}$

非晶性セルロース基質あるいはセルロースの非結晶領域にランダムに作用するエンドグルカナーゼ (EG) と機能的に分類された (Fig. 2B, Table 3)¹⁴⁾。その後, CBH や EG のアミノ酸配列に対して疎水性アミノ酸クラスター分析 (hydrophobic cluster analysis: HC 分析) を行うことで, 構造の類似性を基にした糖質加水分解酵素 (GH) ファミリーの分類が Henrissat らによって提案され³³⁾, CAZy (Carbohydrate Active enZymes) データベース (<http://www.cazy.org>) において広く公開されている³⁴⁾。 *Trichoderma reesei* が生産する CBH については, CBH I が GH ファミリー 7, CBH II が GH ファミリー 6 に分類され, それぞれ Cel7A と Cel6A と呼ばれることとなった³⁵⁾。また, 同菌が生産する EG については, EG I が Cel7B, EG II が Cel5, EG III が Cel12, EGIV が Cel61 (後の CAZy データベースの AA ファミリー 9 に分類される可溶性多糖モノオキシゲナーゼ (Lytic Polysaccharide MonoOxygenase: LPMO)), EGV が Cel45 と名付けられている。一方, 担子菌である木材腐朽菌のセルロース分解については, 白色腐朽菌は *T. reesei* と同様に, 種々の CBH と EG を生産するが, 褐色腐朽菌は CBH を生産せず, EG のみを生産することが示されている¹⁴⁾。また, Broda や Cullen らのグループはそれぞれに白色腐朽菌 *P. chrysosporium* が *T. reesei* と比較して GH ファミリー 7 に属する CBH をコードする遺伝子を多く有していること^{36, 37)}, さらに, 菌がセルロースや木材などで生育する際に, それらを遺伝子発現レベルで厳密に制御していることを明らかにし³⁸⁾, 同じ糸状菌であっても白色腐朽菌は生育環境に合わせたセルロース分解機構を獲得してきたことを示した。

上述のように, 糸状菌によるセルロース分解は主に CBH や EG などの加水分解酵素によって進行すると理解されていたが, 一方, 1970年代に Eriksson らのグループは, 複数の糸状菌をセルロース培地で生育させ, その粗酵素液を用いてセルロースを糖化すると, 酸素存在下で糖化率が上がることを見出し³⁹⁾, 糸状菌のセルロース分解系において酸化還元反応が重要であることを示した。さらに, この反応を担う酵素としてセロビオースの還元末端を酸化するセロビオース: キノン酸化還元酵素 (CBQ) とセロビオース酸化酵素 (CBO) を見出した^{40, 41)}。その後, これらの酵素の電子受容体としては酸素よりも, Fe (III) を含有する化合物などが遙かに効率的に機能することが示され^{42, 43)}, のちにセロビオース脱水素酵素 (cellobiose dehydrogenase: CDH) と呼ば

れるようになった (Fig. 2C, Table 3)。さらに, 最近の2010年には, セルロース鎖を酸化的に低分子化する酵素として LPMO が見出され⁴⁴⁾, CDH が LPMO に電子を供与している可能性も示唆されている⁴⁵⁾。それに加えて, CDH に類似した電子伝達能を有するセルロース結合性シトクロム (CBCyt. *b*₅₆₂)⁴⁶⁾ やピロロキノリンキノン (PQQ) 依存性ピラノース脱水素酵素⁴⁷⁾ 等が発見されており, 1970年代に提唱された糸状菌によるセルロース分解における酸化還元反応の重要性が, 近年, 再認識されている⁴⁸⁻⁵¹⁾。

(A) Hydroxyl radical attack via Fenton chemistry

(B) Hydrolysis

(C) Oxidative cleavage

Fig. 2. Biodegradation of cellulose by secreted enzymes of wood decay fungi. (Hori & Cullen⁷⁴⁾) A) Hydroxyl radical attack via Fenton chemistry: Hydroxide (H_2O_2) producing enzymes and reduced iron (Fe^{2+}) supply system provoke Fenton chemistry ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\cdot$) and nonspecific degradations of polymers generate by hydroxyl radical ($\text{OH}^\cdot$). The system includes various H_2O_2 producing enzymes (e.g. glyoxal oxidase, GLOX) and quinone reductase (QRD). B) Hydrolysis: Cellulose is cooperatively hydrolyzed by cellulases as shown in Table 3. C) Oxidative cleavage: lytic polysaccharide monooxygenase (LPMO) cleaves cellulose chain and cellobiose dehydrogenase and other heme enzymes works as electron donor as shown in Table 3. Recent reports suggest H_2O_2 producing enzymes could work with LPMO.

Table 3. Cellulose-degrading enzymes produced by wood decay fungi.

CAZy family	Function	Domain structure	Comments
GH1	β -glucosidase (BGL)	GH1	Hydrolysis of β -1,4-glucoside bonds
GH3	BGL	Cellulose binding module (CBM1)-GH3	Hydrolysis of β -1,4-glucoside and β -1,3-glucoside bonds
GH5_5	Endo-glucanase (EG)	CBM1-GH5_5	Hydrolysis of β -1,4-glucoside bonds
GH6	Cellobiohydrolase (CBH)/EG	CBM1-GH6	Hydrolysis of β -1,4-glucoside bonds
GH7	CBH/EG	GH7-CBM1	Hydrolysis of β -1,4-glucoside bonds
GH9	EG	GPI-GH9	Hydrolysis of β -1,4-glucoside bonds
GH12	EG	GH12	Hydrolysis of β -1,4-glucoside bonds
GH45	EG	GH45	Hydrolysis of β -1,4-glucoside bonds
AA3_1/AA8	Cellobiose dehydrogenase (CDH)	Heme domain (AA8)-Flavin domain (AA3_1)	Oxidation of cello-oligosaccharides into the corresponding lactones
AA7	Gluco-oligosaccharide oxidase (GOOX)	AA7	Oxidation of oligosaccharides into the corresponding lactones
AA8	Carbohydrate-binding Cytochrome <i>b</i> ₅₆₂ (CBCyt <i>b</i> ₅₆₂)	AA8-CBM1	Reduction of iron ion
AA9	Lytic polysaccharide mono-oxygenase (LPMO)	AA9-CBM1	Oxidative cleavage of polysaccharides
AA12/AA8	PQQ-dependent pyranose dehydrogenase (PDH)	AA8-AA12-CBM1	Oxidation of pyranoses

4. 木材腐朽菌のゲノム研究によって明らかになった多様な分解機構

全ゲノム配列解析が行われる以前から各木材腐朽菌から単離された酵素に基づいて分解メカニズムは予測されていたが、多種多様な酵素および非酵素的な分解が協調して働いているため、全体像を把握することが難しかった。木材腐朽菌のゲノム研究は2004年に白色腐朽菌 *P. chrysosporium* の全ゲノム配列情報が、公開されたことに端を発し¹⁾、その後も USDA-FPL の Cullen らによって精力的に進められている⁵²⁻⁵⁵⁾。また、*P. chrysosporium* の腐朽メカニズム全体を理解するために、ゲノム情報を利用することで全タンパク質（プロテオーム）解析および全転写産物（トランスクリプトーム）解析が行われ、どのような環境下で、どのような分解酵素が、どのくらい生産されているのかが網羅的に調べられた⁵⁶⁻⁵⁸⁾。その結果、これまでに本菌をセルロース分解性培地で培養した培養上清からセルロース分解酵素がいくつか単離されていたが、培養上清をプロテオーム解析することで、セルロース分解に関わる酵素セットが明らかとなり、各セルラーゼに改めて名

前がつけられた (CBHI, Cel7C-F; CBHII, Cel6; EG, Cel5A-B, Cel12A-B, Cel45A, Cel61B)。また、同時にキシラン・マンナン・ペクチンを分解するヘミセルラーゼが多数検出され、リグニン分解に関わる LiP も検出された。一方、これまでにリグニン分解関連酵素が単離されてきたリグニン分解性培地の培養上清においては、多数の LiP や MnP と共に過酸化水素供給酵素 GLOX も検出され、本菌のリグニン分解に必要な酵素セットが改めて明らかになった。このように全く異なる酵素セットを異なるタイミングで生産していることから、木材腐朽環境下で腐朽菌は分解すべき対象を認識し、それに応じて酵素生産を制御していると考えられた。実際に、セルロース存在下でセルロース分解酵素セットが誘導される一方で、セルロースなどの栄養源が十分でない低窒素低炭素条件でリグニン分解酵素セットが誘導されることが示された⁵⁹⁾。その誘導機構は未だ不明な点が多いが、セルロース分解酵素の誘導物質としてセロオリゴ糖やキシロオリゴ糖が関与していることが示唆されている^{60, 61)}。また白色腐朽菌の中には、セルロース分解の前に選択的にリグニンを分解する菌がいることもよく知られており⁶²⁾、代表的な

菌である *Ceriporiopsis subvermispora* は分解に関する基礎的な研究や脱リグニンの応用研究などに古くから研究されてきた⁶³⁾。本菌のゲノム情報が解読され、保有する分解酵素の種類は *P. chrysosporium* とほとんど違いがないが⁵³⁾、リグニン分解酵素が分解初期に生産され、その後多糖分解酵素が生産されることが明らかとなり、選択リグニン分解における特徴的な酵素生産の時間的な制御機構の存在が示唆された⁶⁴⁾。

さらに、2009年には、褐色腐朽菌 *Postia placenta* のゲノム情報が解読され⁵²⁾、*P. chrysosporium* がセルロースやヘミセルロースを同時に分解していく一方で、本菌は、上述したようなフェントン反応等を介した活性酸素種の生成による分解やヘミセルロース分解酵素を主に利用して分解していることが示された⁶⁵⁾。また、木材を分解している菌糸の先端部から順番に分解過程をサンプリングし、遺伝子発現解析を行った結果、木材腐朽時には非酵素的な分解系が先んじて細胞に浸透して分解し、エクスパンシンやペクチン分解酵素によって細胞壁を緩ませた後に、セルラーゼやヘミセルラーゼによる分解が起こるという動的な戦略が明らかとなった⁶⁶⁾。また、2000年代に Ralph グループらが構築した NMR による網羅的かつ詳細な細胞壁構造解析手法⁶⁷⁾ を用いることで、褐色腐朽菌もリグニンの主要な結合である β -O-4 結合を開裂していることが明らかとなっており、それによりベンズアルデヒドや安息香酸ができてることが示されている⁶⁸⁻⁷⁰⁾。これらのことも合わせて、昔から予測されていた非酵素的な分解が証明されてきている。

また、腐朽菌による樹種選択性の視点では、*P. chrysosporium* と *P. placenta* はそれぞれ分解対象が広葉樹か針葉樹かを感知し、生産する酵素を変化させていると示唆された⁷¹⁾。しかし、両菌では全く利用している分解酵素が違うため、より詳細に樹種選択性について検証するために、針葉樹を分解する白色腐朽菌である *Phanerochaete carnosus*^{72, 73)} および *Phlebiopsis gigantea*⁵⁵⁾ を用いて進められている。これらの研究の中で、針葉樹特異的なヘミセルロース（グルコマンナン）やリグニン（G-リグニン）の分解酵素生産の違いに加えて、抗菌性の強い抽出成分の分解に大きな違いがあることが示唆されている。

5. 木材腐朽菌における比較ゲノム解析

次の段階として、各菌から得られたゲノム情報および転写やタンパク質合成の網羅的解析情報（トランスクリプトーム解析やプロテオーム解析）を統合

的に比較解析することで、分解酵素と腐朽形態の関連性を木材腐朽菌の全体的な傾向として議論されることとなった（Fig. 3）⁷⁴⁾。菌類の系統分類上で複数の目に跨る木材腐朽菌を対象とした大規模なデータ解析の結果について Floudas らは報告を行った³⁾。その結果、白色腐朽菌と褐色腐朽菌の違いは、リグニン分解に関わるクラス II POD を保有しないこと、また結晶性セルロースの分解に関わる GH6 および GH7 に属する CBH やセルロース結合性モジュール CBM1 の有無に対応することが明らかとなった。また、木材の腐朽能力が高く、腐朽形態に多様性がある担子菌ハラタケ綱サルノコシカケ目（Polyporales）に属する白色腐朽菌と褐色腐朽菌に限定すると、褐色腐朽菌が木材分解過程で生産する酵素は、白色腐朽菌と比較してセルラーゼやヘミセルラーゼの種類が少なかった。一方、褐色腐朽菌のみが菌体外に生産していた唯一の酵素はベンゾキノン還元酵素（BQR または QRD）であり、フェントン反応に関わることが示唆されている酵素であった^{75, 76)}。即ち、褐色腐朽菌はリグニンだけでなくセルロースおよびヘミセルロースの分解に関わる酵素による特異的な分解メカニズムも縮小する一方で、フェントン反応による活性酸素種の生成を介した非特異的分解機構を獲得していることが示唆された⁵⁴⁾。しかしながら、白色腐朽菌中での例外としては、ハラタケ目（Agaricales）に属するスエヒロタケ（*Schizophyllum commune*）のようにリグニン分解に関わる POD 遺伝子を持たないため、腐朽能力が低く、軟腐朽のように細胞間層を分解せず残すものの存在が示されている^{77, 78)}。また、褐色腐朽菌についても分類上の目（もく）によって保有する遺伝子情報に大きな違いがある。これらについては、下記において細述する。

木造建築物や木造外構施設等の腐朽害において重要な位置付けとなる褐色腐朽菌は、サルノコシカケ目だけでなく、キカイガラタケ目（Gloeophyllales）に属するキチリメンタケ（*Gloeophyllum trabeum*）およびイグチ目（Boletales）に属するイドタケ（*Coniophora puteana*）やナミダタケ（*Serpula lacrymans*）などがあり、それらのゲノム配列も明らかにされている^{3, 79)}。これら褐色腐朽菌は、系統分類的には白色腐朽菌の進化の中で孤立したグループとして散在していることが特徴的であり、種によって違う分解様式があることがゲノム解読前から示唆されていた。確かに、褐色腐朽菌同士をゲノム比較すると、サルノコシカケ目に属する褐色腐朽菌と同様にリグニン分解に関与するクラス IIPOD を保有していないことは共通しているものの、セルロー

CAZy Family	Function	Bolet	Bolet	Polyp	Polyp	Polyp	Gloeo	Russu	Russu	Polyp	Polyp	Polyp	Polyp	Polyp	Polyp	Polyp	Polyp	Polyp	Agari	Agari	
		Conpu	Serla	Wolco	Fompi	Pospl	Glotr	Hetan	Stehi	Bjead	Phach	Phaca	Phlgi	Phlbr	Gansp	Dicsq	Trave	Cersu	Pleos	Shico	Trire
AA1_1	Laccase	6	4	3	5	2	4	14	15	0	0	0	0	8	16	11	7	7	11	2	0
AA1 others	MCO etc	2	2	2	2	2	1	4	4	2	5	10	5	3	2	2	3	2	1	4	8
AA2	POD (LiP, MnP, VP)	0	0	0	0	0	0	8	5	16	15	8	10	15	8	12	25	15	9	0	0
AA3_1	CDH	1	2	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
AA3 others	GMC oxidase	20	13	14	21	29	24	32	47	39	38	36	23	39	32	31	22	21	40	25	12
AA5	CRO	6	3	4	4	3	2	5	8	7	7	6	4	8	9	9	9	3	16	3	1
AA6	BQR	2	2	1	1	1	3	2	1	4	4	3	4	4	2	1	1	0	2	4	1
AA8-CBM1	Cytb562	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	2	0
AA9	LPMO	10	5	2	4	2	0	10	16	28	16	11	15	12	16	15	18	9	29	22	3
AA12	PQQ	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	2	1	0	0	0	0	1	0	1
GH1	Glucosidase	3	3	1	2	2	5	2	3	2	2	2	2	2	3	4	2	3	3	3	2
GH2	Mannosidase	5	3	3	4	3	4	3	3	2	2	3	2	3	4	3	4	5	4	3	4
GH3	Glycosidase	13	10	8	12	6	11	12	17	9	11	11	9	8	13	8	13	6	13	13	13
GH5_5	Cellulase (EG)	5	3	2	3	3	2	3	4	4	2	6	4	4	3	3	3	2	4	2	2
GH5_7	Mannanase	3	4	2	2	2	2	2	1	2	3	2	2	2	2	2	2	2	4	1	1
GH5 others	Glycanase	13	13	14	14	12	15	11	15	13	14	16	13	17	13	14	17	14	13	13	5
GH6	Cellulase (CBH/EG)	2	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1
GH7	Cellulase (CBH, EG)	2	0	0	0	0	0	1	3	5	6	6	5	4	3	4	4	3	16	2	2
GH9	Cellulase (EG)	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0
GH10	Xylanase	3	1	4	2	3	3	2	6	4	6	5	4	8	10	5	6	6	3	5	1
GH11	Xylanase	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	2	0	0	0	0	1	2	1	3
GH12	Cellulase (EG)	4	2	2	2	2	2	4	5	2	2	3	3	2	3	3	5	2	2	1	2
GH27	Pectinase	4	3	3	4	3	3	4	5	3	3	3	3	2	3	6	4	4	7	1	8
GH28	Pectinase	13	7	9	12	8	10	8	17	6	4	4	10	5	10	7	11	6	6	3	4
GH30	Glycanase	7	2	2	10	3	3	2	5	1	2	3	2	2	3	2	4	1	4	5	5
GH43	Glycanase	6	2	1	7	1	6	4	12	6	4	4	7	2	12	7	3	2	8	20	2
GH45	Cellulase (EG)	1	0	0	1	0	1	2	1	1	2	1	1	3	2	1	2	2	2	1	1
GH51	Arabinofuranosidase	3	1	4	4	1	4	1	3	2	2	2	2	1	2	2	2	2	3	2	0
GH53	Galactanase	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	6	1	1	0
GH74	Xyloglucanase	0	1	0	0	0	1	1	2	2	4	2	2	1	1	1	1	1	3	1	1
GH95	Arabinofuranosidase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	3	2	1	1	1	1	2	4
GH115	Glucuronidase	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	1	1	2	3	2	2	2	1	3	1

Fig. 3. Number of CAZy genes encoded in wood decay fungi genomes. (A modified figure of Hori & Cullen⁷⁴⁾). Bolet, Boletales; Polyp, Polyporales; Gloeo, Gloeophyllales; Russu, Russulales; Agari, Agaricales. Bjead, *Bjerkandera adusta*; Phlbr, *Phlebiopsis breviospora*; Phlgi, *Phlebiopsis gigantea*; Gansp, *Ganoderma* sp.; Cersu, *Ceriporiopsis subvermispora*; Conpu, *Coniophora puteana*; Dicsq, *Dichomitus squalens*; Fompi, *Fomitopsis pinicola*; Glotr, *Gloeophyllum trabeum*; Hetan, *Heterobasidion annosum*; Phaca, *Phanerochaete carnosae*; Phchr, *Phanerochaete chrysosporium*; Pleos, *Pleurotus ostreatus*; Pospl, *Postia placenta*; Schco, *Schizophyllum commune*; Serla, *Serpula lacrymans*; Stehi, *Stereum hirsutum*; Trave, *Trametes versicolor*; Wolco, *Wolfiporia cocos*; Trire, *Trichoderma reesei*.

ス分解関連遺伝子 (GH6/GH7 および CDH/LPMO) の保有数が属する目によって顕著に違った (Fig. 3)⁷⁴⁾。例えば、キカイガラタケ目に属するキチリメンタケは結晶性セルロース分解酵素 (GH6/GH7) を保持していない一方で、セルロースの酸化的分解酵素 (CDH/LPMO) は保有しており、サルノコシカケ目に属する褐色腐朽菌 (GH6/GH7 および CDH/LPMO を持たない) とは異なっていた。その後、本菌が保有する LPMO はセルロースやヘミセルロースの分解機能を有することが報告された⁸⁰⁾。一方、イグチ目に属するイドタケやナミダタケのゲノム上

には、GH6/GH7 および CDH/LPMO のいずれも保有されていた。実際に、ナミダタケでは転写産物レベルで LPMO が高発現しているという報告がなされており⁷⁹⁾、また、イドタケではセルロース培地において CDH や CBH が同定されている^{81, 82)}。これらのことは、イグチ目に属する褐色腐朽菌は結晶性セルロース分解や酸化的な糖質分解酵素系を利用しており、結晶性セルロースの分解機構は褐色腐朽全体を特徴付ける因子とは言えない。なお、イグチ目に属するイドタケやナミダタケは生態的な特徴に基づくと家屋腐朽菌 (house-rot fungi) の中に分類さ

れており、特にナミダタケについて乾腐菌 (dry-rot fungi) としても知られている。欧米での木造家屋腐朽の大部分は、これらの褐色腐朽菌による害であることが知られている¹³⁾。このような生態的な特徴と腐朽菌が保有する木材分解に関連する酵素とその遺伝子との関係については、今後の研究成果が待たれるところである。

6. 木材腐朽菌の起源と進化について

Hibbett らのグループは腐朽型と分解メカニズムの関連性を発展させて、多数の菌のゲノム情報を活用し、保有される分解酵素の分子進化系統樹に基づく、分子時計解析を行うことでそれぞれの腐朽菌が分岐した時期を算出することに成功している³⁾。その結果、進化的にもっとも古い木材腐朽菌の祖先は元来保有していた多糖分解能力に加えて、Mn 依存性ペルオキシダーゼを獲得することによりリグニン分解能力を得たハラタケ綱 (Agaricomycetes) に属する白色腐朽菌であることが示された。その誕生は2億9000万年前に起こったと解析されたが、この年代は石炭の蓄積が大幅に減少し始める時期と一致していた (Fig.4)。これにより古生物学において推測

されていた石炭紀の終焉と白色腐朽菌出現の関連性が再確認されると共に、地球規模での炭素循環に腐朽菌が大きく関わってきた可能性が示唆された。また、それ以降も白色腐朽菌は祖先から様々なリグニン分解酵素や多糖分解酵素を獲得していき、一方、褐色腐朽菌はそれら分解酵素を欠損することで白色腐朽菌から進化したことが明らかになった。しかし、針葉樹は裸子植物として3億100万年前に、広葉樹は被子植物として2億1700万年前に地球上に現れたことを考慮すると、何故、地質年代的に広葉樹よりも前に現れていた白色腐朽菌が広葉樹を好んで分解するように進化したのかと疑問が呈された。また、白色腐朽菌から褐色腐朽菌への分岐が起きたのは、針葉樹や広葉樹が地球上に現れた時期よりもずっと後であることが示されており、どのようにして褐色腐朽菌が針葉樹を好んで分解するようになったのかも興味が持たれた。

このようなことから、Krah らは、白色・褐色に加えて樹種選択性の情報を紐付けた上で木材腐朽菌の進化系統樹に基づいて分子時計解析を行った。この際に、これまでに米国農務省に収集されている1031種の白色腐朽菌と126種の褐色腐朽菌について

Fig. 4. Evolutionary phylogenetic tree of wood decay fungi within Agaricomycetes based on molecular clock analyses (A modified figure of Krah et al.⁸³⁾).

検証した⁸³⁾。分解する対象の90%以上が広葉樹なら広葉樹宿主, 90%以上が針葉樹なら針葉樹宿主, それ以外を両樹種と定義すると, 白色腐朽菌では51%が広葉樹を, 17%が針葉樹を, 32%が両樹種を分解する宿主とすることが確認された。これに対して, 褐色腐朽菌では27%が広葉樹を, 39%が針葉樹を, 44%が両樹種を分解する宿主としていた。これら結果に基づく, 確かに通説通り, 白色腐朽菌は広葉樹を分解する傾向があると言える。しかし, 褐色腐朽菌は, 両方を宿主とする菌の割合が44%と針葉樹を宿主とする割合に比べて高く, また樹種選択性は腐朽菌が属する目によって全く異なることが明らかになった。このことは上述した通り, 褐色腐朽菌の多様性を示す結果となった。

さらに, 彼らは, どの樹種選択性を持つ白色腐朽菌からどの樹種選択性を持つ褐色腐朽菌へと遷移したのかのシミュレーションを行った (Fig. 5)。その結果, まず針葉樹を分解する白色腐朽菌が起源となり, その後に広葉樹も分解するように進化したと予測された。また, 約1億2000万年前の真正双子葉類 (現在, 被子植物の種類の約4分の3を占める) の出現を契機として, 白色腐朽菌の種数が爆発的に増加したことが分子時計解析により示された。すなわち, 広葉樹 (被子植物) の多様化, 種数の増加した際に, それらの分解に適応していった白色腐朽菌は, 爆発的に種数を増やし繁栄したと考えられた。次に, 白色腐朽菌から褐色腐朽菌への分岐をシミュレーションすると, 広葉樹のみを分解する白色腐朽菌から広葉樹のみを分解する褐色腐朽菌へと遷移し, その後に針葉樹も分解できるように進化したと予測された (Fig. 5)。つまり, 褐色腐朽菌は広葉樹分解

菌として発生したが, 後に広葉樹を分解することが制限される環境にさらされることになり, 針葉樹も分解する方向へと進化が促進されたと予想された。これら結果は, 広葉樹は針葉樹に比べて多様性に富んでいる (それぞれ約20万種と約540種が現存している) ことに対応するように白色腐朽菌の数が圧倒的に多いことによっても説明できる。しかしながら, 白色から褐色へ, または広葉樹から針葉樹分解性への遷移点については, なぜそのように進化したのかは明確に示されていない。このような分子進化はゲノム塩基配列上に, 突然変異・水平伝播・トランスポゾンなどによって遺伝子が獲得・欠損することによって起こるとされることが考えられるが, そのような変異を持った種が様々な環境因子の影響を受けて選択される。これらの環境因子については, 分解対象である植物と共に, 生息していた時代や地域の温度・湿度・酸素濃度・腐朽菌と競争的 (あるいは共生的) に植物を分解している微生物や腐朽菌などの影響が大きいと考えられる。また自然環境下での樹種選択性と, 実験室内での腐朽能力は必ずしも一致するとは言えず, このような環境要因を検討する余地は残されていることから今後の動向に興味もたれる。

7. 結 び に

以上述べてきた通り, ゲノム配列情報を利用することによりこれまで試験管内で観察されてきた現象の分子メカニズムが明らかとなり, 白色腐朽・褐色腐朽という大別だけではない多様な木材腐朽菌の分解酵素メカニズムやその制御機構があることが示唆された。更には蓄積されたゲノムデータを利用することで, 腐朽菌が辿ってきた進化の道筋の一部が明らかになった。また, 今回はほとんど説明しなかったが, オミックス解析を生態系内での現象に適用することで (メタ・オミックス解析), 腐朽に関わる微生物菌叢や作用している酵素も正確に解析出来るようになり, 自然環境下での植物細胞壁の分解において腐朽菌が主に働いていることが明らかになった。しかし, その他の微生物もセルラーゼなどを高生産しており, これら微生物は相互作用により植物という栄養源を効率的に利用していることが示唆されている⁶⁾。つまり試験管内および自然環境下において, それぞれの菌について環境因子や他生物との関わりを念頭において, 木材腐朽の現象を捉えると共に, ゲノム情報を利用することで体系的かつ詳細な分子メカニズムを明らかにすることが必要であると考えられた。その際には, 腐朽菌しか保有しない多数の機能未知な酵素⁷⁸⁾, また腐朽環境下において

Fig. 5. Translation rates of host specialization in wood decay fungi within Agaricomycetes based on a multi-state likelihood model.⁸³⁾ Numbers denote translation rate. Host specialization is based on gymnosperm association; Gymnosperm specialist, above 90% of gymnosperm association; Angiosperm specialist, below 10% gymnosperm association; Generalists 10-90% of gymnosperm association.

作用している様々な微生物が生産する機能未知な酵素⁶⁾がどのように作用することで効率的な分解に寄与するのかも明らかにすることも重要だと考えている。このように自然によって選択されてきた各腐朽菌が保有する分子メカニズムに対して理解を深めることは、多様な木質バイオマスをも有用物質に変換するために必要な高選択的かつ高効率なバイオプロセスの構築に大いに役立つことと期待される。また、このような知見は木造建築物や木質外構施設を木材腐朽菌から保護するための新たなヒントを得ることや木質バイオマスを利用した食用担子菌の栽培法の改善等への応用に対しても貢献できると考えている。

謝 辞

本稿で紹介した筆者らの研究結果は、主に米国農務省林産研究所の Dan Cullen 博士、米国クラーク大学の David Hibbett 教授、カナダ・トロント大学 Emma Master 教授との共同研究に基づいている。この場を借りて厚く御礼申し上げる。本稿の内容は科研費若手研究 (B) No.16K1872706の成果を含む。

文 献

- 1) Martinez, D., Larrondo, L. F., Putnam, N., Gelpke, M. D. S., Huang, K., Chapman, J., Helfenbein, K. G., Ramaiya, P., Detter, J. C., Larimer, F., Coutinho, P. M., Henrissat, B., Berka, R., Cullen, D., Rokhsar, D.: Genome sequence of the lignocellulose degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* strain RP78. *Nat. Biotechnol.* **22**(6), 695-700 (2004).
- 2) 堀 千明, 五十嵐圭日子, 鮫島正浩: 白色および褐色腐朽菌のゲノム・ポストゲノム解析から木材の腐朽メカニズムを理解する. *木材保存* **40**(4), 152-161 (2014).
- 3) Floudas, D., Binder, M., Riley, R., Barry, K., Blanchette, R. A., Henrissat, B., Martínez, A. T., Otilar, R., Spatafora, J. W., Yadav, J. S., Aerts, A., Benoit, I., Boyd, A., Carlson, A., Copeland, A., Coutinho, P. M., de Vries, R. P., Ferreira, P., Findley, K., Foster, B., Gaskell, J., Glotzer, D., Górecki, P., Heitman, J., Hesse, C., Hori, C., Igarashi, K., Jurgens, J. A., Kallen, N., Kersten, P., Kohler, A., Kües, U., Kumar, T. K. A., Kuo, A., LaButti, K., Larrondo, L. F., Lindquist, E., Ling, A., Lombard, V., Lucas, S., Lundell, T., Martin, R., McLaughlin, D. J., Morgenstern, I., Morin, E., Murat, C., Nagy, L. G., Nolan, M., Ohm, R. A., Patyshakuliyeva, A., Rokas, A., Ruiz-Dueñas, F. J., Sabat, G., Salamov, A., Samejima, M., Schmutz, J., Slot, J. C., St John, F., Stenlid, J., Sun, H., Sun, S., Syed, K., Tsang, A., Wiebenga, A., Young, D., Pisabarro, A., Eastwood, D. C., Martin, F., Cullen, D., Grigoriev, I. V., Hibbett, D. S.: The Paleozoic origin of enzymatic lignin decomposition reconstructed from 31 fungal genomes. *Science* **336** (6089), 1715-1719 (2012).
- 4) Grigoriev, I. V., Nikitin, R., Haridas, S., Kuo, A., Ohm, R., Otilar, R., Riley, R., Salamov, A., Zhao, X., Korzeniewski, F., Smirnova, T., Nordberg, H., Dubchak, I., Shabalov, I.: MycoCosm portal: gearing up for 1000 fungal genomes. *Nucleic Acids Res.* **42**(D1), D699-704 (2014).
- 5) Lutzoni, F., Nowak, M. D., Alfaro, M. E., Reeb, V., Miadlikowska, J., Krug, M., Arnold, A. E., Lewis, L. A., Swofford, D. L., Hibbett, D., Hilu, K., James, T. Y., Quandt, D., Magallón, S.: Contemporaneous radiations of fungi and plants linked to symbiosis. *Nat. Commun.* **9** (5451), 1-18 (2018).
- 6) Hori, C., Gaskell, J., Cullen, D., Sabat, G., Stewart, P. E., Lail, K., Peng, Y., Barry, K., Grigoriev, I. V., Kohler, A., Fauchery, L., Martin, F., Zeiner, C. A., Bhatnagar, J. M.: Multi-omic analyses of extensively decayed *Pinus contorta* reveal expression of a diverse array of lignocellulose degrading enzymes. *Appl. Environ. Microbiol.* **84**(20), e01133-18 (2018).
- 7) Zabel, R., Morrell, J.: "Wood microbiology: decay and its preservation.", Academic Press Inc., San Diego, CA, 1992, pp. 8-14.
- 8) Hartig, R.: "Die Zersetzungserscheinungen Des Holzes Der Nadelholzbaume Und Der Eiche in Forstlicher, Botanischer Und Chemischer Richtung.", Verlag von Julius Springer, Berlin, 1878.
- 9) Brefeld, O.: "Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie 8. Basidiomyceten III.", Arthur Felix, Leipzig, 1889.
- 10) Hubert, E. E.: "Outline of Forest Pathology."

- John Wiley & Sons Inc., NY, 1931.
- 11) Bavendamm, W.: Über das Vorkommen und den Nachweis von Oxydasen bei holzerstörenden Pizen. *Z Pflanzenkr Pflanzenschutz* **38**, 257-276 (1928).
 - 12) Cartwright, K. St. G., Findlay, W. P. K.: "Decay of timber and its prevention.", London H.M.S.O., London, 1946.
 - 13) Schmidt, O.: "Wood and tree fungi", Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2006.
 - 14) Eriksson, K., Blanchette, R., Ander, P.: Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components.", Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1990, pp. 20-56.
 - 15) Cowling, E. B.: "Comparative biochemistry of the decay of sweetgum sapwood by white-rot and brown-rot fungi. USDA Technical Bulletin 1258", US Government Printing Office edn. US Government Printing Office, Washington DC, 1961.
 - 16) Kirk, T. K., Highley, T. L.: Quantitative changes in structural components of conifer woods during decay by white- and brown-rot fungi. *Phytopath.* **63**(11), 1338-1342 (1973).
 - 17) Savoy, J. G.: Breakdown of timber by ascomycetes and fungi imperfecti. *Ann. Appl. Biol.* **41**(2), 336-347 (1954).
 - 18) Tien, M., Kirk, T. K.: Lignin-degrading enzyme from the hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium* Burds. *Science*. **221**(4611), 661-663 (1983).
 - 19) Gold, M. H., Kuwahara, M., Chiu, A. A., Glenn, J. K.: Purification and characterization of an extracellular H₂O₂-requiring diarylpropane oxygenase from the white rot basidiomycete, *Phanerochaete chrysosporium*. *Arch. biochem. biophys.* **234**(2), 353-362 (1984).
 - 20) Kuwahara, M., Glenn, J. K., Morgan, M. A., Gold, M. H.: Separation and characterization of two extracellular H₂O₂-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *FEBS Lett.* **169**(2), 247-250 (1984).
 - 21) Camarero, S., Sarkar, S., Ruiz-Dueñas, F. J., Martínez, M. J., Martínez, A. T.: Description of a versatile peroxidase involved in the natural degradation of lignin that has both manganese peroxidase and lignin peroxidase substrate interaction sites. *J. Biol. Chem.* **274**(15), 10324-10330 (1999).
 - 22) Welinder, K. G.: Superfamily of plant, fungal and bacterial peroxidases. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2**, 388-393 (1992).
 - 23) Kersten, P., Cullen, D.: Extracellular oxidative systems of the lignin-degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Fungal Genet. Biol.* **44**(2), 77-87 (2007).
 - 24) 桃原郁夫: 木材腐朽の酵素学 (II)-リグニン生分解に関わる酵素-. 木材保存 (Wood Preservation) **21**(4), 163-170 (1995).
 - 25) 樋口隆昌: リグニンの生化学合成と微生物分解. 木材研究・資料 **26**, 1-37 (1990).
 - 26) Halliwell, G.: Catalytic decomposition of cellulose under biological conditions. *Biochem. J.* **95**, 35-40 (1965).
 - 27) Koenigs, J. W.: Hydrogen peroxide and iron: A proposed system for decomposition of wood by brown-rot Basidiomycetes. *Wood Fiber Sci.* **6**(1), 66-80 (1974).
 - 28) Goodell, B., Jellison, J., Liu, J., Daniel, G., Paszczynski, A., Fekete, F., Krishnamurthy, S., Jun, L., Xu, G.: Low molecular weight chelators and phenolic compounds isolated from wood decay fungi and their role in the fungal biodegradation of wood. *J. Biotechnol.* **53**(2-3), 133-162 (1997).
 - 29) Tanaka, H., Yoshida, G., Baba, Y., Matsumura, K., Wasada, H., Murata, J., Agawa, M., Itakura, S., Enoki, A.: Characterization of a hydroxyl-radical-producing glycoprotein and its presumptive genes from the white-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *J. Biotechnol.* **128**(3), 500-511 (2007).
 - 30) Arantes, V., Jellison, J., Goodell, B.: Peculiarities of brown-rot fungi and biochemical Fenton reaction with regard to their potential as a model for bioprocessing biomass. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **94**(2), 323-338 (2012).
 - 31) Hammel, K. E., Kapich, A. N., Jensen, J., Kenneth, A., Ryan, Z. C.: Reactive oxygen species as agents of wood decay by fungi. *Enzyme Microb. Technol.* **30**, 445-453 (2002).
 - 32) 金 潤受: 褐色腐朽菌への再訪-褐色腐朽の統一された概念はまだ得られていない-. 木材

- 保存 33(2), 48-57 (2007).
- 33) Henrissat, B., Claeyssens, M., Tomme, P., Lemesle, L., Mornon, J. P.: Cellulase families revealed by hydrophobic cluster analysis. *Gene*. **81**(1), 83-95 (1989).
- 34) Lombard, V., Ramulu, H. G., Drula, E., Coutinho, P. M., Henrissat, B.: The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013. *Nucleic Acids Res.* **42**, D490-495 (2014).
- 35) Teeri, T. T.: Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases. *Trends Biotechnol.* **15**(5), 160-167 (1997).
- 36) Covert, S. F., Bolduc, J., Cullen, D.: Genomic organization of a cellulase gene family in *Phanerochaete chrysosporium*. *Curr. Genet.* **22**, 407-413 (1992).
- 37) Vanden Wymelenberg, A., Covert, S. F., Cullen, D.: Identification of the gene encoding the major cellobiohydrolase of the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 3492-3494 (1993).
- 38) Broda, P., Birch, P. R., Brooks, P. R., Sims, P. F.: Lignocellulose degradation by *Phanerochaete chrysosporium*: gene families and gene expression for a complex process. *Mol. Microbiol.* **19**(5), 923-932 (1996).
- 39) Eriksson, K. E., Pettersson, B., Westermark, U.: Oxidation: an important enzyme reaction in fungal degradation of cellulose. *FEBS Lett.* **49**, 282-285 (1974).
- 40) Westermark, U., Eriksson, K.: Cellobiose: quinone oxidoreductase, a new wood-degrading enzyme from white-rot fungi. *Acta chem. Scand. Ser. B. Org. Chem. Biochem.* **28**, 209-214 (1974).
- 41) Ayers, A. R., Ayers, S. B., Eriksson, K. E.: Cellobiose oxidase, purification and partial characterization of a hemoprotein from *Sporotrichum pulverulentum*. *Eur. J. Biochem.* **90**(1), 171-181 (1978).
- 42) Samejima, M., Eriksson, K. E.: A comparison of the catalytic properties of cellobiose: quinone oxidoreductase and cellobiose oxidase from *Phanerochaete chrysosporium*. *Eur. J. Biochem.* **207**(1), 103-107 (1992).
- 43) Kremer, S. M., Wood, P. M.: Evidence that cellobiose oxidase from *Phanerochaete chrysosporium* is primarily an Fe (III) reductase. Kinetic comparison with neutrophil NADPH oxidase and yeast flavocytochrome *b₂*. *Eur. J. Biochem.* **205**(1), 133-138 (1992).
- 44) Vaaje-Kolstad, G., Westereng, B., Horn, S. J., Liu, Z., Zhai, H., Sørli, M., Eijsink, V. G. H.: An oxidative enzyme boosting the enzymatic conversion of recalcitrant polysaccharides. *Science*. **330**(6001), 219-222 (2010).
- 45) Phillips, C. M., Beeson, W. T., Cate, J. H., Marletta, M. A.: Cellobiose dehydrogenase and a copper-dependent polysaccharide monooxygenase potentiate cellulose degradation by *Neurospora crassa*. *ACS Chem. Biol.* **6**(12), 1399-1406 (2011).
- 46) Yoshida, M., Igarashi, K., Wada, M., Kaneko, S., Suzuki, N., Matsumura, H., Nakamura, N., Ohno, H., Samejima, M.: Characterization of carbohydrate-binding cytochrome *b₅₆₂* from the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**(8), 4548-4555 (2005).
- 47) Matsumura, H., Umezawa, K., Takeda, K., Sugimoto, N., Ishida, T., Samejima, M., Ohno, H., Yoshida, M., Igarashi, K., Nakamura, N.: Discovery of a eukaryotic pyrroloquinoline quinone-dependent oxidoreductase belonging to a new auxiliary activity family in the database of carbohydrate-active enzymes. *PLoS One*. **9**(8), e104851 (2014).
- 48) Bissaro, B., Várnai, A., Røhr, Å. K., Eijsink, V. G. H.: Oxidoreductases and reactive oxygen species in conversion of lignocellulosic biomass. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **82**(4), e00029-18 (2018).
- 49) 鮫島正浩, 五十嵐圭日子: 酸化還元酵素が関与する白色木材腐朽菌のセルロース分解機構. *化学と生物* **41**(1), 22-26 (2003)
- 50) 石田卓也, 五十嵐圭日子, 鮫島正浩: セルロースの生分解に関わる新規酵素, 溶解性多糖モノオキシゲナーゼ. *Cell. Commun.* **22**(3), 137-142 (2015).
- 51) 梅澤 究: 糸状菌のセルロース分解系における酸化還元酵素に関する最新の知見. *木材保存* **43**(3), 120-130 (2017).

- 52) Martinez, D., Challacombe, J., Morgenstern, I., Hibbett, D., Schmoll, M., Kubicek, C. P., Ferreira, P., Ruiz-Duenas, F. J., Martinez, A. T., Kersten, P., Hammel, K. E., Vanden Wymelenberg, A., Gaskell, J., Lindquist, E., Sabat, G., Bondurant, S. S., Larrondo, L. F., Canessa, P., Vicuna, R., Yadav, J., Doddapaneni, H., Subramanian, V., Pisabarro, A. G., Lavín, J. L., Oguiza, J. A., Master, E., Henrissat, B., Coutinho, P. M., Harris, P., Magnuson, J. K., Baker, S. E., Bruno, K., Kenealy, W., Hoegger, P. J., Kües, U., Ramaiya, P., Lucas, S., Salamov, A., Shapiro, H., Tu, H., Chee, C. L., Misra, M., Xie, G., Teter, S., Yaver, D., James, T., Mokrejs, M., Pospisek, M., Grigoriev, I. V., Brettin, T., Rokhsar, D., Berka, R., Cullen, D.: Genome, transcriptome, and secretome analysis of wood decay fungus *Postia placenta* supports unique mechanisms of lignocellulose conversion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106** (6), 1954-1959 (2009).
- 53) Fernandez-Fueyo, E., Ruiz-Dueñas, F. J., Ferreira, P., Floudas, D., Hibbett, D. S., Canessa, P., Larrondo, L. F., James, T. Y., Seelenfreund, D., Lobos, S., Polanco, R., Tello, M., Honda, Y., Watanabe, T., Watanabe, T., San, R. J., Kubicek, C. P., Schmoll, M., Gaskell, J., Hammel, K. E., St John, F. J., Vanden Wymelenberg, A., Sabat, G., Splinter Bondurant, S., Syed, K., Yadav, J. S., Doddapaneni, H., Subramanian, V., Lavín, J. L., Oguiza, J. A., Perez, G., Pisabarro, A. G., Ramirez, L., Santoyo, F., Master, E., Coutinho, P. M., Henrissat, B., Lombard, V., Magnuson, J. K., Kües, U., Hori, C., Igarashi, K., Samejima, M., Held, B. W., Barry, K. W., Labutti, K. M., Lapidus, A., Lindquist, E. A., Lucas, S. M., Riley, R., Salamov, A. A., Hoffmeister, D., Schwenk, D., Hadar, Y., Yarden, O., de Vries, R. P., Wiebenga, A., Stenlid, J., Eastwood, D., Grigoriev, I. V., Berka, R. M., Blanchette, R. A., Kersten, P., Martinez, A. T., Vicuna, R., Cullen, D.: Comparative genomics of *Ceriporiopsis subvermispora* and *Phanerochaete chrysosporium* provide insight into selective ligninolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**(14), 5458-5463 (2012).
- 54) Hori, C., Gaskell, J., Igarashi, K., Samejima, M., Hibbett, D., Henrissat, B., Cullen, D.: Genomewide analysis of polysaccharides degrading enzymes in 11 white- and brown-rot Polyporales provides insight into mechanisms of wood decay. *Mycologia.* **105** (6), 1412-1427 (2013).
- 55) Hori, C., Ishida, T., Igarashi, K., Samejima, M., Suzuki, H., Master, E., Ferreira, P., Ruiz-Dueñas, F. J., Held, B., Canessa, P., Larrondo, L. F., Schmoll, M., Druzhinina, I. S., Kubicek, C. P., Gaskell, J. A., Kersten, P., St John, F., Glasner, J., Sabat, G., Splinter BonDurant, S., Syed, K., Yadav, J., Mgbeahuruike, A. C., Kovalchuk, A., Asiegbu, F. O., Lackner, G., Hoffmeister, D., Rencoret, J., Gutiérrez, A., Sun, H., Lindquist, E., Barry, K., Riley, R., Grigoriev, I. V., Henrissat, B., Kües, U., Berka, R. M., Martínez, A. T., Covert, S. F., Blanchette, R. A., Cullen, D.: Analysis of the *Phlebiopsis gigantea* genome, transcriptome and secretome provides insight into its pioneer colonization strategies of wood. *PLoS Genet.* **10**(12), e1004759 (2014).
- 56) Sato, S., Liu, F., Koc, H., Tien, M.: Expression analysis of extracellular proteins from *Phanerochaete chrysosporium* grown on different liquid and solid substrates. *Microbiol.* **153**(9), 3023-3033 (2007).
- 57) Vanden Wymelenberg, A., Minges, P., Sabat, G., Martinez, D., Aerts, A., Salamov, A., Grigoriev, I., Shapiro, H., Putnam, N., Belinky, P., Dosoretz, C., Gaskell, J., Kersten, P., Cullen, D.: Computational analysis of the *Phanerochaete chrysosporium* v2.0 genome database and mass spectrometry identification of peptides in ligninolytic cultures reveal complex mixtures of secreted proteins. *Fungal Genet. Biol.* **43**(5), 343-356 (2006).
- 58) Vanden Wymelenberg, A., Sabat, G., Martinez, D., Rajangam, A. S., Teeri, T. T., Gaskell, J., Kersten, P. J., Cullen, D.: The *Phanerochaete chrysosporium* secretome: database predictions and initial mass spectrometry peptide identifications in cellulose-grown

- medium. *J. Biotechnol.* **118**(1), 17-34 (2005).
- 59) Vanden Wymelenberg, A., Gaskell, J., Mozuch, M., Kersten, P. J., Sabat, G., Martinez, D., Cullen, D.: Transcriptome and secretome analyses of *Phanerochaete chrysosporium* reveal complex patterns of gene expression. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**(12), 4058-4068 (2009).
- 60) Suzuki, H., Igarashi, K., Samejima, M.: Cellotriose and cellotetraose as inducers of the genes encoding cellobiohydrolases in the Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**(18), 6164-70 (2010).
- 61) Hori, C., Suzuki, H., Igarashi, K., Samejima, M.: Transcriptional response of the cellobiose dehydrogenase gene to cello- and xylooligosaccharides in the Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**(10), 3770-3773 (2012).
- 62) Blanchette, R. A.: Delignification by wood-decay fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* **29**, 381-398 (1991).
- 63) 渡辺隆司: バイオリファイナリーの最近の展開と白色腐朽菌によるリグノセルロース前処理. 木材学会誌 **53**(1), 1-13 (2007).
- 64) Hori, C., Gaskell, J., Igarashi, K., Kersten, P., Mozuch, M., Samejima, M., Cullen, D.: Temporal alterations in the secretome of the selective ligninolytic fungus *Ceriporiopsis subvermispora* during growth on aspen wood reveal this organism's strategy for degrading lignocellulose. *Appl. Environ. Microbiol.* **80**(7), 2062-2070 (2014).
- 65) Vanden Wymelenberg, A., Gaskell, J., Mozuch, M., Sabat, G., Ralph, J., Skyba, O., Mansfield, S. D., Blanchette, R. A., Martinez, D., Grigoriev, I., Kersten, P. J., Cullen, D.: Comparative transcriptome and secretome analysis of wood decay fungi *Postia placenta* and *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**(11), 3599-3610 (2010).
- 66) Zhang, J., Presley, G. N., Hammel, K. E., Ryu, J. S., Menke, J. R., Figueroa, M., Hu, D., Orr, G., Schilling, J. S.: Localizing gene regulation reveals a staggered wood decay mechanism for the brown rot fungus *Postia placenta*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **113**(39), 10968-10973 (2016).
- 67) Mansfield, S. D., Kim, H., Lu, F., Ralph, J.: Whole plant cell wall characterization using solution-state 2D NMR. *Nature Protocols.* **7**(9), 1579-1589 (2012).
- 68) Martínez, A. T., Rencoret, J., Nieto, L., Jiménez-Barbero, J., Gutiérrez, A., del Río, J. C.: Selective lignin and polysaccharide removal in natural fungal decay of wood as evidenced by *in situ* structural analyses. *Environ. Microbiol.* **13**(1), 96-107 (2011).
- 69) Yelle, D. J., Ralph, J., Lu, F., Hammel, K. E.: Evidence for cleavage of lignin by a brown rot basidiomycete. *Environ. Microbiol.* **10**(7), 1844-1849 (2008).
- 70) Yelle, D. J., Wei, D., Ralph, J., Hammel, K. E.: Multidimensional NMR analysis reveals truncated lignin structures in wood decayed by the brown rot basidiomycete *Postia placenta*. *Environ. Microbiol.* **13**(4), 1091-1100 (2011).
- 71) Vanden Wymelenberg, A., Gaskell, J., Mozuch, M., Bondurant, S. S., Sabat, G., Ralph, J., Skyba, O., Mansfield, S. D., Blanchette, R. A., Grigoriev, I. V., Kersten, P. J., Cullen, D.: Significant alteration of gene expression in wood decay fungi *Postia placenta* and *Phanerochaete chrysosporium* by plant species. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**(13), 4499-4507 (2011).
- 72) MacDonald, J., Suzuki, H., Master, E. R.: Expression and regulation of genes encoding lignocellulose-degrading activity in the genus *Phanerochaete*. *Appl. Microbiol. Biot.* **94**(2), 339-351 (2012).
- 73) Suzuki, H., MacDonald, J., Syed, K., Salamov, A., Hori, C., Aerts, A., Henrissat, B., Wiebenga, A., VanKuyk, P. A., Barry, K., Lindquist, E., LaButti, K., Lapidus, A., Lucas, S., Coutinho, P., Gong, Y., Samejima, M., Mahadevan, R., Abou-Zaid, M., de Vries, R. P., Igarashi, K., Yadav, J. S., Grigoriev, I. V., Master, E. R.: Comparative genomics of the white-rot fungi, *Phanerochaete carnosa* and *P. chrysosporium*, to elucidate the genetic basis of the distinct wood types they colonize. *BMC Genomics.*

- 13(1), 444 (2012).
- 74) Hori, C., Cullen, D.: Prospects for bioprocess development based on recent genome advances in lignocellulose degrading Basidiomycetes. "Gene expression system in fungi: advancements and applications." Springer, Switzerland, 2016, pp. 161-181.
 - 75) Cohen, R., Suzuki, M. R., Hammel, K. E.: Differential stress-induced regulation of two quinone reductases in the brown rot basidiomycete *Gloeophyllum trabeum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**(1), 324-331 (2004).
 - 76) Jensen, K. A., Ryan, Z. C., Vanden Wymelenberg, A., Cullen, D., Hammel, K. E.: An NADH: Quinone oxidoreductase active during biodegradation by the brown-rot Basidiomycete *Gloeophyllum trabeum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**(6), 2699-2703 (2002).
 - 77) Floudas, D., Held, B. W., Riley, R., Nagy, L. G., Koehler, G., Ransdell, A. S., Younus, H., Chow, J., Chiniquy, J., Lipzen, A., Tritt, A., Sun, H., Haridas, S., LaButti, K., Ohm, R. A., Kües, U., Blanchette, R. A., Grigoriev, I. V., Minto, R. E., Hibbett, D. S.: Evolution of novel wood decay mechanisms in Agaricales revealed by the genome sequences of *Fistulina hepatica* and *Cylindrobasidium torrendii*. *Fungal Genet. Biol.* **76**, 78-92 (2015).
 - 78) Riley, R., Salamov, A. A., Brown, D. W., Nagy, L. G., Floudas, D., Held, B. W., Lévasseur, A., Lombard, V., Morin, E., Otillar, R., Lindquist, E. A., Sun, H., Labutti, K. M., Schmutz, J., Jabbour, D., Luo, H., Baker, S. E., Pisabarro, A. G., Walton, J. D., Blanchette, R. A., Henrissat, B., Martin, F., Cullen, D., Hibbett, D. S., Grigoriev, I. V.: Extensive sampling of basidiomycete genomes demonstrates inadequacy of the white-rot/brown-rot paradigm for wood decay fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **111**(27), 9923-9928 (2014).
 - 79) Eastwood, D. C., Floudas, D., Binder, M., Majcherczyk, A., Schneider, P., Aerts, A., Asiegbu, F. O., Baker, S. E., Barry, K., Bendiksby, M., Blumentritt, M., Coutinho, P. M., Cullen, D., de Vries, R. P., Gathman, A., Goodell, B., Henrissat, B., Ihrmark, K., Kauserud, H., Kohler, A., Labutti, K., Lapidus, A., Lavin, J. L., Lee, Y-H., Lindquist, E., Lilly, W., Lucas, S., Morin, E., Murat, C., Oguiza, J. A., Park, J., Pisabarro, A. G., Riley, R., Rosling, A., Salamov, A., Schmidt, O., Schmutz, J., Skrede, I., Stenlid, J., Wiebenga, A., Xie, X., Kues, U., Hibbett, D. S., Hoffmeister, D., Hogberg, N., Martin, F., Grigoriev, I. V., Watkinson, S. C.: The plant cell wall-decomposing machinery underlies the functional diversity of forest fungi. *Science*. **333**(6043), 762-765 (2011).
 - 80) Kojima, Y., Várnai, A., Ishida, T., Sunagawa, N., Petrovic, D. M., Igarashi, K., Jellison, J., Goodell, B., Alfredsen, G., Westereng, B., Eijsink, V. G. H., Yoshida, M.: A lytic polysaccharide monooxygenase with broad xyloglucan specificity from the brown-rot fungus *Gloeophyllum trabeum* and its action on cellulose-xyloglucan complexes. *Appl. Environ. Microbiol.* **82**(22), 6557-6572 (2016).
 - 81) Schmidhalter, D. R., Canevascini, G.: Purification and characterization of two exo-cellobiohydrolases from the brown-rot fungus *Coniophora puteana* (Schum ex Fr) Karst. *Arch. Biochem. Biophys.* **300**(2), 551-558 (1993).
 - 82) Schmidhalter, D. R., Canevascini, G.: Isolation and characterization of the cellobiose dehydrogenase from the brown-rot fungus *Coniophora puteana* (Schum ex Fr.) Karst. *Arch. Biochem. Biophys.* **300**(2), 559-563 (1993).
 - 83) Krah, F-S., Bässler, C., Heibl, C., Soghigian, J., Schaefer, H., Hibbett, D. S.: Evolutionary dynamics of host specialization in wood-decay fungi. *BMC Evol. Biol.* **18**(1), 119 (2018).