

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Zhu Gang
審査委員	<p style="text-align: center;">主査 會見 忠則 ㊟</p> <p style="text-align: center;">副査 霜村 典宏 ㊟</p> <p style="text-align: center;">副査 山口 武視 ㊟</p> <p style="text-align: center;">副査 阿座上弘行 ㊟</p> <p style="text-align: center;">副査 上野 誠 ㊟</p>
題目	Regulation of the starch degradation enzymes during fruiting in edible mushroom <i>Pholiota microspora</i> (食用きのこナメコにおける子実体形成過程におけるデンプン分解酵素の発現制御に関する研究)
<p style="text-align: center;">審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>本研究では、これまでの研究で、明らかにされていたグルコアミラーゼ 1 遺伝子 (<i>PnGlu1</i>) の他に、ナメコのゲノムの配列中に、第二のグルコアミラーゼ遺伝子 (<i>PnGlu2</i>)、3つの α アミラーゼ遺伝子 (<i>PnAmy1</i>, <i>PnAmy2</i> と <i>PnAmy3</i>)、α-グルコシダーゼ遺伝子 (<i>PnGcs</i>) 及びマルターゼ遺伝子 (<i>PnMal</i>) を見出した。 <i>PnGlu1</i> と <i>PnGlu2</i> は、糖質加水分解酵素ファミリー15、<i>PnAmy1</i>, <i>PnAmy2</i> と <i>PnAmy3</i> 及び <i>PnMal</i> は、糖質加水分解酵素ファミリー13に属し、それぞれサブファミリー32、サブファミリー5 とサブファミリー1に属していた。また、<i>PnGcs</i> の推定アミノ酸配列は、糖質加水分解酵素ファミリー31 タンパク質であった。</p> <p>次に、様々な炭素源を含む最少培地及び、鋸屑培地で栽培した際のこれらの遺伝子の菌糸体および原基、子実体などの組織における発現を定量的逆転写 PCR により調べた。その結果、異なる炭素源を含有する最少培地中の <i>PnGlu1</i> と <i>PnGlu2</i> 発現は、鋸屑培地に比べてはるかに低かった。マルトースを唯一の炭素源として用いた場合、<i>PnGlu1</i> 発現の菌糸体での最高レベルが観察された。<i>PnGlu2</i> の転写レベルは、他の炭素源よりもアミロース含有培地において高かった。鋸屑培地における <i>PnGlu1</i> の転写レベルは、二核性菌糸体において高く、<i>PnGlu2</i> の発現は、原基および子実体の段階で高かった。本研究では、このように、2つのグルコアミラーゼ遺伝子 <i>PnGlu1</i> と <i>PnGlu2</i> の発現の差を見出し、このような菌糸の成長と子実体の形成などの各発達段階において調節されていることを示した。</p>	

また、*PnAmy1* と *PnAmy3* の発現は、最少培地中で、様々な炭素源によって調節されており、デンプン分解における重要な役割を果たしていることを示唆していた。*PnAmy1* と *PnAmy3* の最高レベルの発現は、アミロペクチン及びアミロースを唯一の炭素源として使用した場合に観察された。一方、*PnAmy2* 発現は、最少培地中のグルコース以外の種々のデンプンによりわずかに誘導された。*PnAmy3* は、栄養菌糸成長中に発現している一方で、*PnAmy1* と *PnAmy2* 発現は鋸屑培地中の子実体の発達と密接に、関連していた。

ナメコは、異なる炭素源を添加した最少培地中で増殖させたときに、*PnGcs* の発現は、マルトースによって高レベルで誘導された。鋸屑培地上で培養した際の *PnGcs* の発現は、菌糸成長時と比べ、子実体形成段階で劇的に増加したことから、子実体形成に密接に関連していることが、示唆された。一方、同じ酵素活性をもつと思われる、*PnMal* は、菌糸体で発現が高かった。

このように、きのこは、多くのデンプン分解酵素遺伝子を持っているが、それらを巧妙に使い分けて、菌糸体増殖や子実体発生などを行っていることを見出した。これらの知見は、新規性が高く子実体発生機構の解明に極めて重要であり、非常に高く評価される。以上のことから、本学位論文は、博士学位論文として十分な価値を有すると判定した。

