

学位論文審査の結果の要旨

氏名	李燕
審査委員	<p>主査 會見 忠則 (印)</p> <p>副査 荒瀬 榮 (印)</p> <p>副査 山口 武視 (印)</p> <p>副査 霜村 典宏 (印)</p> <p>副査 阿座上 弘行 (印)</p>
題目	<p>Regulation of the GH 15 family protein (glucoamylase) gene expression during mycelia growth and fruiting body development in the basidiomycetous <i>Pholiota microspora</i></p> <p>[<i>Pholiota microspora</i> の菌糸体増殖および子実体発生におけるGH 15タンパク質(グルコアミラーゼ)発現調節に関する研究]</p>
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>本論文は、二極性きのこ(ナメコ, <i>Pholiota microspora</i>)の増殖過程及び子実体生育過程における炭素源の利用とグルコアミラーゼ遺伝子(<i>PnGluI</i>)との関係を分子レベルで論じたものである。本研究では、まず、<i>P. microspora</i>のグルコアミラーゼ遺伝子を同定した。アミノ酸をコードする領域は、1743 bpであり、581-amino酸をコードしていた。その内、N末端の最初の17アミノ酸は、シグナルペプチドと考えられた。本タンパク質は、糖質加水分解酵素ファミリー15特有の配列及びC-末端に炭水化物結合モジュール(CBM20)を見出すことができた。また、グルコアミラーゼのアミノ酸配列を基にした分子系統解析では、グルコアミラーゼのアミノ酸配列の分子系統は、菌根菌や腐生菌という栄養摂取形態とは、全く相関性がないことから、グルコアミラーゼは、栄養摂取の形態とは全く独立した進化を遂げており、おそらく、子実体形成のような菌根菌であっても、腐生菌であっても必要な共通した機能に関与していることを考察した。さらに、グルコアミラーゼ遺伝子のダイカリオンの菌糸体中の発現量を様々なデンプン(可溶性、トウモロコシ、サツマイモ、ジャガイモ)の入った最少培地で培養し、逆転写定量PCRで調べた。その結果、グルコアミラーゼ遺伝子の転写は、可溶性デンプン、トウモロコシデンプンで顕著であった。以上のことから、菌根菌を含めて、きのこの栽培に用いるデンプンに関しては、その由来によって、菌糸体増殖や子実体形成に差があることを示した。</p> <p>次に、<i>P. microspora</i>のグルコアミラーゼ遺伝子の転写調節機構を解明するため、グルコアミラーゼ遺伝子の開始コドンの上流2734 bpの配列を調べたところ、TATAボックスの他に酵母で見出されている<i>MATa1</i>タンパク質結合部位と<i>MATa2</i>タンパク質の結合部位それぞれのコンセンサス配列が見出された。これらの配列の存在とグルコアミラーゼ遺伝子の発現調節との関連性を調べるために、一核菌糸体、二核菌糸体、そして、ホメオド</p>	

メインプロテイン遺伝子を導入した形質転換体のグルコアミラーゼ遺伝子の発現量を調べた。その結果、グルコアミラーゼ遺伝子の転写は、二核菌糸で誘導され、形質転換体でも一核菌糸と比べ発現量が高かった。次に、グルコアミラーゼ遺伝子の発現調節と子実体形成との関係を調べるため、鋸屑培地で、培養したナメコのグルコアミラーゼ遺伝子の発現量を調べたところ、菌かき後に顕著に減少し、子実体形成時に発現量、そして、グルコアミラーゼ活性、グルコース量ともに劇的に増加することが分かった。以上の結果から、グルコアミラーゼの発現は、二核化と子実体形成に深く関与しており、これらの形態形成と連動して発現していることが示唆された。

以上のように、本論文は、二極性きのこのグルコアミラーゼの遺伝子発現を調べ、その遺伝子の役割及び発現調節の仕組みについて、分子生物学的手法を駆使し、詳細に検討にしたものである。このような、二極性きのこにおけるデンプン利用性に関する分子生物学的な報告は、これまでほとんどないことから、その重要性及び新規性が非常に高く評価される論文である。したがって、以上のことから、本学位論文は、博士学位として十分な価値を有すると判定した。