

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Jianing WAN
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	外生菌根菌マツタケの生理・生態に関する分子生物学的研究
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>本論文では、最も経済的に重要なきのこの一つである <i>Tricholoma matsutake</i> (マツタケ)の子実体を人工栽培するために必要な基礎的な知見を得るために、<i>T. matsutake</i> の生態学、生理学、そして遺伝学を分子生物学的手法を用いて研究した。</p> <p>最初に、生態学的な違い(樹木宿主の違い)ときのこの種の違いについて調べ、<i>T. matsutake</i> とその近縁種のミトコンドリアrDNA小サブユニット遺伝子 (mt SSU rDNA) V4 領域の塩基配列 および 核由来rDNA ITS領域 (rDNA-ITS) の塩基配列を比較した。アジア各国の森林環境や地理的に異なる場所から採取したサンプルの塩基配列の結果から、宿主特異性や地理的分布が異なっても全て同じ<i>T. matsutake</i>であることが明らかになった。加えて、<i>T. matsutake</i>, <i>T. fulvocastaneum</i>(ニセマツタケ)および <i>T. bakamatsutake</i> (バカマツタケ) は、同一のクレードに位置し、特に<i>T. magnivelare</i> (アメリカマツタケ) は、<i>T. matsutake</i> に近縁であることを明らかにした。</p> <p>次いで、デンプン利用に関する生理学的な特徴を理解するために、外生菌根菌 <i>T. matsutake</i>由来糖質加水分解酵素ファミリー15に属するグルコアミラーゼ遺伝子 (<i>TmGlu1</i>) の解析を行った。<i>T. matsutake</i> 菌糸体を異なる炭素源で培養したところ、培養液中の菌対外グルコアミラーゼ活性および高度な<i>TmGlu1</i>の転写が検出された。とくに、アミロースを添加した培地でグルコースを添加した培地比べ顕著な上昇がみとめられた。これらの結果は、デンプン、特にアミロースが、デンプンの利用に直接関係する<i>TmGlu1</i>の転写およびグルコアミラーゼ活性の上昇に影響したことが示唆された。同様な結果は、その他の形態のデンプンを用いた時にも見られた。一方、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から、腐生性きのこ菌根性きのこのが、同一のクレードを形成した。このように、腐生性きのこ菌根性きのこの違いとグルコアミラーゼのアミノ酸配列の系統とに相関がみられなかったことから、グルコアミラーゼは、2種類のきこのことなるタイプのきのこに共通する役割をもっていると考察した。</p>	

最後に、育種技術開発のための *T. matsutake* の遺伝学を確立するために、ホメオドメイン 1 (HD1) 蛋白質遺伝子 (*Tmhox1*), および、近接するミトコンドリア中間体ペプチダーゼ (MIP) 遺伝子および *Tmhox1* の上流域 の塩基配列を解析した. その結果, *T. matsutake* の A 交配型遺伝座の遺伝子配置は, なぜなら, ホメオドメイン 2 (HD2) 蛋白質が, *Tmhox1* 存在しなかったため, 非常にユニークであった. HD1 遺伝子をプローブとしたサザンハイブリダイゼーションの結果から, DH1 遺伝子とは, 離れた位置に HD2 遺伝子が存在し, かつ, 本研究で使用した *T. matsutake* 株は, ホモカリオンではないかと推察された. HD1 タンパク質のアミノ酸配列を基にした分子系統解析の結果から, HD1 タンパク質の進化は, 担子菌きのこの生態学的, 生理学的, 形態学的特徴と全く無関係であると推察された. したがって, 形態学的な種とクランプ形成能および菌根形成能は, 進化の過程において, 初期段階で, 別々に進化したことが, 推察された. もし, 形態学的な変化が, 進化の本筋であるとするならば, クランプ形成能菌根形成能, およびデンプン利用性は, 進化の過程とは, 無関係に獲得または失ったと考察した.

以上の結果から, *T. matsutake* の人工栽培に向けた 3 つの必要な可能性を提案した. i) 基本的に, *T. matsutake* は, 広葉樹とも針葉樹とも共生可能である. ii) *T. matsutake* は, 比較的短鎖のデンプンを効率的に利用する. iii) *T. matsutake* の生活環は, ホモタリックと示唆される. これらのことは, *T. matsutake* の人工栽培に向けた 3 つの必要な可能性を見出し, *T. matsutake* の人工栽培に向けた新しい戦略を提供するものである. このような, *T. matsutake* における様々な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.