

学位論文審査の結果の要旨

氏名	SUTTHIKHAMPA SURASIT
審査委員	<p>主査 會見 忠則 (印)</p> <p>副査 霜村 典宏 (印)</p> <p>副査 山口 武視 (印)</p> <p>副査 阿座上弘行 (印)</p> <p>副査 上野 誠 (印)</p>
題目	Evolution of multigene families for lignin degradation in <i>Pholiota microspora</i>
<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フェノール化合物及びリグニン分解に関わる遺伝子の発現について分子レベルで解析し論じたものである。リグニンの分解は、マンガンペルオキシダーゼ及びラッカーゼ等の細胞外リグニン分解酵素によることが、解っているが、特に白色腐朽菌については、これらの酵素遺伝子を多重遺伝子ファミリーとして有している。木材腐朽担子菌である、<i>P. microspora</i>のゲノム上には、5個のマンガンペルオキシダーゼ(<i>MnP</i>)と9個のラッカーゼ(<i>LCC</i>)が見出されたことから、これらの遺伝子の役割について、検討を行った。</p> <p>まず最初に、<i>P. microspora</i>一核菌糸体ゲノム上に存在する5つのマンガンペルオキシダーゼ遺伝子(<i>PnMnPs</i>)を同定し、それらのアミノ酸配列を用いた系統解析から、<i>PnMnP5</i>, 3, 2と4が一つのクラスターを形成したが、<i>PnMnP1</i>は、<i>PnMnP5</i>とは、比較的遠い系統関係にあることが解った。定量RT-PCRの結果からは、<i>PnMnP5</i>のみが、強く転写される唯一の<i>MnP</i>遺伝子であった。おがくず培地中の<i>PnMnP5</i>の転写は、M4液体培地より100倍高く、M4液体培地中の<i>PnMnP5</i>の発現は、他の<i>PnMnPs</i>より15倍高かった。これらの結果から、<i>PnMnP5</i>のみが、<i>P. microspora</i>の菌糸体成長において、主要な役割を果たしていることを示していた。</p> <p>次に、<i>P. microspora</i>のフェノールオキシダーゼ遺伝子の塩基配列を分析し、ラッカーゼ、フェロキシダーゼおよびチロシナーゼなどの3種類のフェノールオキシダーゼ遺伝子を同定した。<i>P. microspora</i>における<i>Lcc1</i>, <i>Lcc9</i>および<i>Tyr</i>の遺伝子の発現レベルを、定量RT-PCRによって解析した。リグニン用の化合物を含むM4液体培地中で増殖させた菌糸体、および、おがくず培地上で栽培した、菌糸体、原基、子実体におけるフェノールオキシダーゼ遺伝子の転写産物を定量した。すべて<i>Lcc1-9</i>は、おがくず培地上で増殖さ</p>	

せた菌糸体では、非常に低いレベルで発現するが、*Lcc1* は 3 mM のベラトリルアルコールを加えた M4 液体培地で M4 液体基本培地における発現レベルよりも 8 倍高かった。また、*Lcc9* と *Tyr* は原基および子実体で高度に発現していた。

以上の結果から、*P. microspora* のリグニン分解酵素関連遺伝子ファミリーの各々の役割について次のように提案した。i) 白色腐朽菌のリグニン分解能力は、遺伝子の数よりもむしろ、遺伝子の発現量によるところが大きく、1 つの遺伝子でも十分に機能する可能性が高い。ii) *P. microspora* の子実体の色は、*Lcc9* および *Tyr* 等の協調によって決定されるかもしれないことを示唆した。

本論文で論じられた報告は、新規性が高く、白色腐朽菌によるリグニン分解の応用や子実体の色の異なる品種開発への応用などが期待され、その重要性及び新規性が非常に高く評価される。以上のことから、本学位論文は、博士学位として十分な価値を有すると判定した。