

## 学位論文審査の結果の要旨

### Summary of Doctoral Dissertation Examination

氏 名/Name	米山 彰造
審査委員 Examining Committee	Chief Examiner 主 査 児玉 基一朗 (印)
	Assistant Examiner 副 査 中桐 昭 (印)
	Assistant Examiner 副 査 上野 誠 (印)
	Assistant Examiner 副 査 伊藤 真一 (印)
	Assistant Examiner 副 査 松本 晃幸 (印)
題 目 Title	タモギタケの突然変異および健康機能性成分の育種利用に関する研究
審査結果の要旨 (2,000字以内) / Summary of Doctoral Dissertation Examination (Within 1200 words)	
<p>ヒラタケ属の食用きのこの一種であるタモギタケ (<i>Pleurotus cornucopiae</i> var. <i>citrinopileatus</i>) は高い抗酸化作用を持つアミノ酸の一種、エルゴチオネイン (L-ergothioneine, EGT) を多く含有することが特徴として知られている。一方、栽培においては、収穫前の子実体から放出される大量の胞子が、通称「きのこ肺」と呼ばれるアレルギー性の肺疾患、施設の汚染、それに伴う病虫害発生、子実体の品質低下など様々な問題を引き起こすため、タモギタケ生産の発展を考える際の障害となっている。本研究では、品種育成を通じてタモギタケの消費および生産拡大への貢献を目的として、紫外線照射により胞子欠損性突然変異体を分離し、その育種利用に資する DNA マーカーを用いた効率的育種選抜技術 (Marker Assisted Selection, MAS) を開発するとともに、EGT 含量に関する遺伝解析を行い、胞子欠損性と EGT 含量において優位性を併せ持つ品種の育成を試みた。</p> <p>まず、タモギタケ栽培品種由来プロトプラストへの紫外線照射により、胞子形成能が野生型の 1/1000 以下に低下した胞子欠損性変異体 108Y2D を分離・調製した。遺伝分析により、本変異体の胞子欠損性は一因子性の優性変異と推察された。本変異体の子実体ヒダの走査型電子顕微鏡観察により、長径が顕著に異なる胞子や小柄が 4 個より少ない例などが観察された。また、ギムザ染色により、減数分裂までは正常に終えた後、担子器内に留まる核や、担子器上で核を有しない胞子などが観察された。以上の結果より、本変異株では減数分裂後の四分子核の移動あるいは胞子形成、胞子の成熟に関与する遺伝子に突然変異が生じていることが示唆された。変異体 108Y2D 株の胞子欠損性の原因となる変異点を、次世代シーケンサー解析によるゲノム比較解析により探索した。その結果、野生型である元ゲノムのコンティグ 12、1,229,199bp の位置に生じた SNP (C→T) が胞子欠損性変異に関わっていることを見出した。胞子欠損性品種育種への MAS 導入を目的に、変異型検出用のアレル特異的 PCR マーカー、“Tamogitake spo” を設計し、簡易 DNA を用いたリアルタイム PCR 法での検定系を確立した。</p> <p>続いて、QTL 形質と推定されている EGT 含量に対して、高含量株 (8.4 mg/g-dw) と低含量株 (0.25 mg/g-dw) との交配株を作出し、その分離集団を用いて主に RAD (Restriction-site Associated DNA</p>	

Sequencing) マーカーをマッピングした 12 連鎖群からなる遺伝連鎖地図を構築した。さらに、高含量親株由来の一核系統との戻し交配株の EGT 含量を調査し、その値に基づいて EGT 含量形質についての QTL 解析を行った。その結果、CIM (Composite Interval Mapping) 法による解析により、連鎖群 LG10 に 1 QTL (QTL-EGT) が検出された。QTL ピーク近傍の推定遺伝子領域に遺伝子型と表現型とがよく対応する SNP (A/T) が見出され、野生株集団においても EGT 含量の高低に対応して保存されている傾向がみられた。本 SNP (A/T) は QTL マーカー作製に繋がる基盤情報と考えられる。

さらに、孢子欠損性変異体 108Y2D を育種基盤材料として、Tamogitake spo マーカーを用いた MAS の検証を兼ねながら、育種形質に優れた野生型素材との交配を反復した。一方で、EGT 含量の高い素材についても同様の交配の反復を行い、最終的に第 4 世代となる孢子欠損性系統と第 2 世代となる EGT 高含量系統との間で交配を行い、多角的かつ段階的な選抜を繰り返した。その結果、登録要件を満たす孢子欠損性と EGT 含量における優位性を兼ね備えた 61633 株を選抜することができ、品種登録された。また、本株の大規模栽培における飛散孢子の粉塵調査を行ったところ、対照株の 1/10 以下、労働環境基準値の 1/5 まで低減し、当該変異の有効性が実証された。登録品種は EGT 含量に優位な孢子欠損性タモギタケとして、北海道だけでなく、全国的な生産拡大および消費に貢献することが期待される。

以上のように本研究は、タモギタケの突然変異および健康機能性成分の育種利用に関する、新規の学術的知見と応用的に価値ある結果を有していることは明白である。これらの成果は、独創性、新規性および応用性において高く評価でき、本審査委員会は、学位論文として十分な価値を有すると判定した。