

## I.4.4 分子生物学的手法を用いた腐朽判定技術の開発

平成 14 ~ 16 年度  
耐朽性能科，品種開発科

はじめに

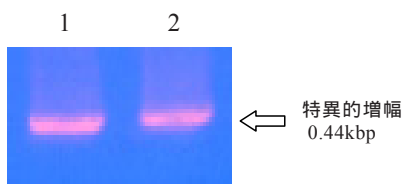
北海道において、木造構造物を構成する部材の劣化は主として木材腐朽菌によって引き起こされている。腐朽被害の予防、あるいはその進行を最小限にとどめるためには部材における木材腐朽菌の発生・侵入を把握した上で早期に適切な処置を実施する必要がある。そこで本研究では分子生物学的手法を用いて木材腐朽菌を迅速に検出するための技術開発について検討した。

研究の内容

平成 14 ~ 15 年度は PCR 法を用いて木材に発生・侵入している木材腐朽菌を特異的に検出するための各種条件（DNA 抽出法，プライマー設計，温度プログラム，サイクル数など）について検討した。その結果，PCR 分析によって木材中に存在する微量の木材腐朽菌を検出するための条件を見いだした。

16 年度は標的木材腐朽菌以外の菌類（カビなど）が共存する条件下での標的菌検出能力を評価し，安定した検出を可能とする条件について検討した。

木造建築において発生・被害が報告されるワタゲサレタケ，ナミダタケを始めとした木材腐朽菌の DNA にクロコウジカビ，クモノスカビなど他の菌の DNA を一定割合で加えたものを鋳型として PCR 反応を行った。その結果，一部の条件で標的木材腐朽菌の DNA に対する増幅阻害が確認された。しかし，これらの条件についても保存性の高い遺伝子領域をあらかじめ増幅した後，種特異的な領域の増幅を行う nested PCR を実施することで安定した結果が得られた（第 1 図）。これは nested PCR によって，標的菌以



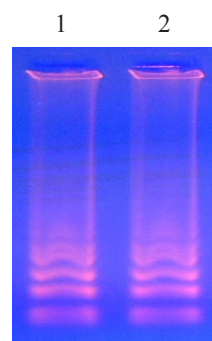
第 1 図 カビ類の共存下におけるイドタケの検出例

凡例) 1: 種特異的 PCR による増幅 (イドタケ DNA のみ)  
2: nested PCR を用いた増幅 (イドタケ + カビ類 DNA)

外の DNA にプライマーが誤って結合する頻度が減少したためと考えられる。

表面がカビに汚染されている住宅の腐朽部材を用いて分析したところ，種特異的なプライマーによりナミダタケを検出することが可能であった。

一方，分析操作の簡便性や迅速性の向上を図るため，PCR 法と併せて新規遺伝子増幅法である LAMP 法による木材腐朽菌の DNA 増幅を試み，検出条件について基本的な検討を行った。ナミダタケの DNA を鋳型として反応を行った結果，種に特異的な増幅が確認された。また，ナミダタケ DNA 配列への特異性は他の菌類の DNA を加えた鋳型を用いた場合においても維持されることが明らかとなった（第 2 図）。



第 2 図 LAMP 法を用いたナミダタケ DNA の増幅

凡例) 1: ナミダタケ DNA のみ  
2: ナミダタケ + カビ類 DNA

以上の検討結果から，分子生物学的手法により，標的木材腐朽菌を木材あるいは他の菌との共存下において選択的に検出可能であることが示された。

まとめ

本研究により，迅速で精度の高い木材腐朽菌の検出技術として分子生物学的手法が応用可能であることが明らかになった。本研究による成果は 17 年度より開始する新規課題「既存木造住宅の生物劣化診断手法の開発」において活用し，さらなる展開を図る予定である。