

胞子を作らないタモギタケを検出するDNAマーカーの開発

北海道立総合研究機構 連携推進部 東 智則
 林産試験場 利用部 微生物グループ 米山彰造
 鳥取大学 松本晃幸

研究の背景・目的

きのこの栽培施設では、きのこから放出される大量の胞子の飛散が原因とされる、施設の汚染や作業従事者のアレルギー性肺炎患などの様々な問題が生じています。そこで、胞子を作らないタモギタケの育種を効率的に進めるため、胞子を作るタモギタケと作らないタモギタケのDNA配列を比較し、DNAマーカー*1を作製しました。作製したDNAマーカーは野生型、胞子欠損株タモギタケを約99%の精度で判別できましたので報告します。

*1 DNAマーカー：ある特定の遺伝形質に対応し、その目印となるDNA配列。

研究の内容・成果

① 胞子欠損株の作出

タモギタケの野生型株に紫外線を照射することにより、胞子落下量が野生型の1/1000未満の胞子欠損株を作出しました。

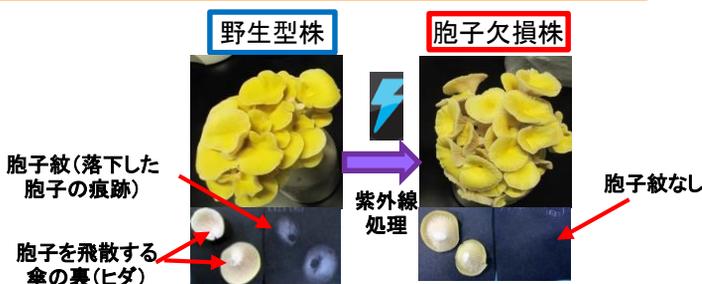
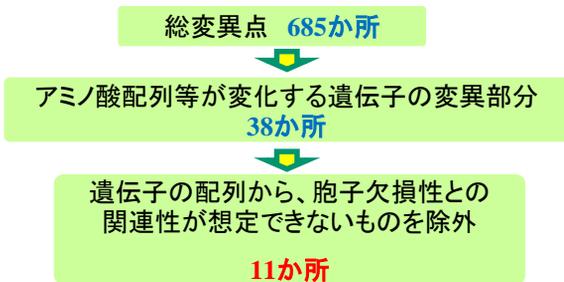


図1 紫外線照射による胞子欠損株の作出

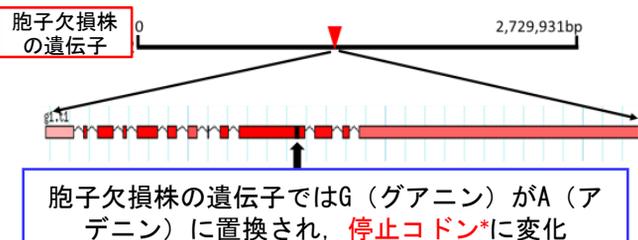
② 野生型株と胞子欠損株のDNA配列の比較解析

野生型株と胞子欠損株のDNA配列の比較解析を行い、総変異点685か所の中から胞子欠損性と関連する可能性のある11か所の変異点を選抜しました。



③ 胞子欠損性と一致する変異点の特定

11ヶ所に絞り込んだ変異点の中から、胞子欠損性と完全に一致する変異点を特定しました。



*停止コドンが入ると、タンパク質の合成は中断する

特定した変異点から、胞子欠損株のDNAをPCR法*2で特異的に増幅するプライマー*3を設計しました。

*2 PCR法：DNAの特定の領域だけを選択的に増幅させる方法

*3 プライマー：PCR法でDNAを増幅する際に使用する一本鎖のDNA断片

表1 設計したプライマー

プライマー名	配列	増幅サイズ
unit 12RT-Ff2	TCGATGATGAGCAGAGGATGA	172 bp
unit 12RT-Rf	TTCGCAGTATGGCTCTAACTGT	

④ DNAマーカーの判定精度の検証

設計したプライマーと、野生型あるいは胞子欠損株のDNAを用いてPCRを行った結果、約99%の精度で判別することができました(表2)。

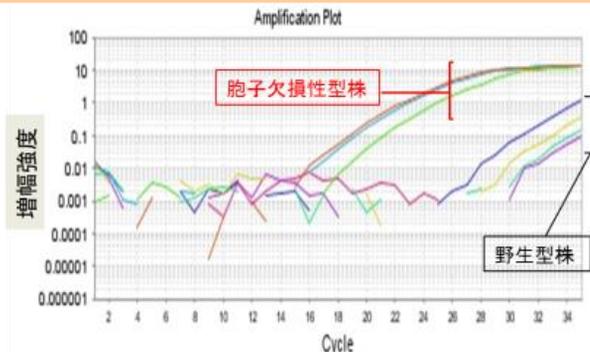


図4 設計したプライマーを用いてPCRを行った検証試験結果の一例

表2 DNAマーカーの検証結果

区分	供試数	正	誤	精度(%)
胞子欠損株	53	52	1	98.1%
野生型株	82	81	1	98.8%
計	135	133	2	98.5%

今後の展開

開発したDNAマーカーを用いることで、きのこの子実発生を待たず、菌糸の状態でも胞子欠損性株を判別することが可能となり、育種を従来より効率的に進めることが期待できます。なお、本研究は農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業として実施しました。