

DNA分析による菌根判別技術の開発

生物機能開発部 村田 仁

マツタケはアカマツの根の細胞間隙に共生する外生菌根性担子菌である。マツタケの生態は未だ不明の点が多く、その正確な生息場所の把握も困難をきたしている。また、人工接種や人工栽培法も確立されていない。このおもだった原因はマツタケの同定が発生した子実体の形態のみによって行われ、菌根レベルでの判別ができないためである。本研究はこの菌根レベルでの判定法を確立するため、分子進化学的に理にかなった有効なDNAマーカーの探索を試みた。真正担子菌類では未だ発見されていないレトロポゾンがマツタケのゲノムに存在することに着目し (Murata et al,1999), これをマーカーにしてマツタケの菌根を同定する技術の開発を試みた。

レトロポゾンとはヒトに感染するHIVや植物に感染性のCaMVなどのレトロウイルスや、レトロウイルスと酷似する増幅機能を持つ可動性遺伝子 (トランスポゾン) である。これは、進化の過程で宿主 (ここではマツタケ) に対して特異的にそのゲノムに入り込み、ゲノムの一部として振る舞う。その一方で環境の変化や宿主ゲノムの複雑化に伴い、レトロポゾン自身が単独で増幅し、増幅したコピーが他のゲノム領域に入り込む。この一連の過程の結果、レトロポソンの種類とゲノム中の挿入位置が種及び系統のレベルで宿主特異的なものとなり、宿主生物の起源とその長い進化の過程をたどるうえで有用な遺伝子マーカーとなる。

Murata and Yamada (1999) で設計されたプライマーをプローブとしたPolymerase Chain Reaction (和光純薬Gene Taq NT使用) 法により、マツタケ菌糸を少なくとも以下に挙げる近縁種から区別することが可能となった：アメリカマツタケ、バカマツタケ、ニセマツタケ、キシメジ、カキシメジ、シモフリシメジ、ミネジメジ、シロシメジ、アイシメジ、ショウロ、アマタケ、ホンシメジ。この方法を用いてアカマツに形成されたマツタケ菌根が特定できることが明らかになった (図1)。このPCR法は少量のDNAがあれば可能であり、しかも従来のリボゾーム遺伝子をマーカーにした手法と異なり塩基配列の分析など特殊な機器類を必要としない。加えて、リボゾーム遺伝子と異なり種間の分化がより明確であり、部分的には同一種内での系統判別に利用できる可能性もある。この技術の発展と応用はマツタケ林地の保存や再生、さらに人工栽培法の確立にも大きく寄与すると考えられる。

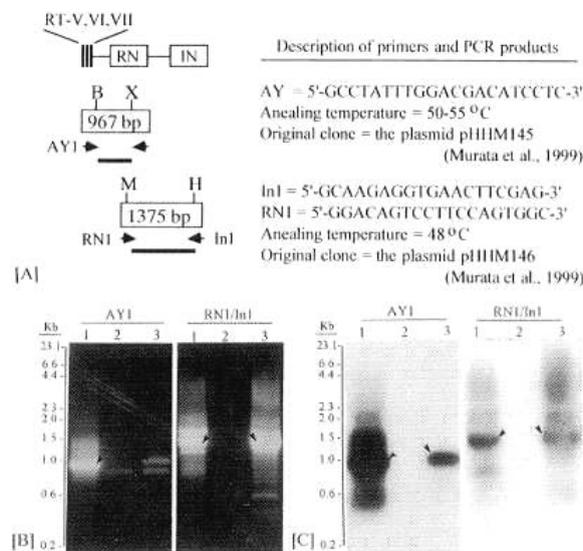


図1. クローニングしたマツタケレトロポソンの一部とPCR法に用いたプライマーの模式図
[A]RT-V, VI, VII-RN-IN=レトロポソンの遺伝子領域。967 bp=プライマーAY1により増幅される遺伝子、1375 bp=プライマーRN1/In1により増幅される遺伝子、プライマーの性質は右のカラムに示されたとおり。
[B]1=マツタケ菌糸のPCRプロファイル、2=アカマツの根のPCRプロファイル、3=マツタケ菌根のPCRプロファイル。
[C]パネル[B]のサザンハイブリダイゼーション解析。マツタケ菌糸及び菌根のサンプルで増幅されたフラグメントはパネル[A]で示されたレトロポソンのフラグメントであることを示す。1=マツタケ菌糸のPCRプロファイル、2=アカマツの根のPCRプロファイル、3=マツタケ菌根のPCRプロファイル。

参考文献：Murata,H., Yamada,A., and Babasaki,K. 1999. Mycologia 91 : 766-775.
Murata,H., and Yamada, A. 1999. Mycoscience 40 : 531-534.