## きの変異発生予防技術の開発

## 生物機能開発部 馬替由美

エノキダケは、自然界で褐色の子実体を形成するきのこであるが、栽培株においては、栽培過程で光を当てずに子実体の色を白色に保つ工夫がなされていた。しかし、1980年代に光照射下でも子実体が全く着色しない「純白系」と呼ばれるエノキタケの新品種が開発され、今では全国的に栽培されるようになっている。一方、純白系が登場した当初から、純白系の子実体がたまに褐色に着色する現象が観察されている。着色したきのこは、市場価値を下げてしまうので生産者にとっては大きな問題となっている。今までは、子実体の着色は純白系の株としての不安定さによるとされていた。そこで、本研究では、エノキタケの着色の原因を明らかにするために、純白系の栽培中に発生した褐色の子実体と、元の白色株の間になんらかの遺伝的差違が存在しないか調べた。

実際には、図のように栽培後期に白色子実体の中に混ざって褐色子実体が出現する(図1)。この褐色子実体から菌糸を分離し、白色子実体の菌糸とその総核酸(染色体DNA、RNA、染色体外DNA、RNA)を比較した。その結果、褐色子実体菌糸の総核酸中に、白色子実体菌糸には存在しない2種類の2本鎖RNA(dsRNA)が存在することを見いだした。さらに、褐色子実体由来菌糸を破砕し、ポリエチレングリコールと塩化ナトリウムを加えて沈殿させた画分を電子顕微鏡観察すると、ウイルス様粒子(Virus-like Particles)(VLP)が確認された(図2A、B)。このVLP画分からdsRNAが検出され、dsRNAはVLPの構成遺伝子であることが明らかになった(図2C)。今まで、エノキタケではVLPは見つかっていなかったので、今回、褐色子実体から発見されたVLPがエノキダケでの初めての報告である。

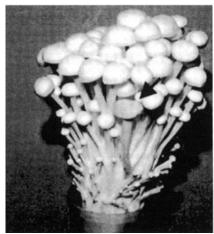


図1. ウイルス様粒子が検出されたエノキダケの着色子実体(矢印)

次に、現在市場に流通しているエノキダケ栽培株に VLPが存在するのかを調べた。その結果、別の純白系から 褐色変異株として分離された菌株以外、VLPは検出されな かった。現在流通している純白系には、もともとVLPは存 在していないといえる。

さらに野生株について調べてみたところ、VLPを持っている株がいくつか見つかった。これらVLP保持野生株と 非保持野生株を栽培して比較すると、次のようなことが明らかになった。

VLP保持野生株の子実体は、非保持株に比べて傘がより褐色に着色する傾向が認められた。また、保持株は培地内の菌糸の生育が不均一で、むらを生じる傾向があった。この様に、VLPは、子実体の着色の原因になっていると推定されるが、それ以外にも菌の生育の点で、栽培には好ましくない影響を与えることが明らかになった。菌類のVLPあるいはdsRNAで、直接宿主の表現型に変化を引き起こすものは非常に少なく、その点でもエノキタケのVLPは興味深い性質を持っていると言える。今後、より詳細な研究によってその特徴を明らかにする必要がある。

現在,流通しているエノキタケの栽培株は,一種類の系統が長い間使用されて来たため,子実体形成不全などの不安定な性質を持っている。それを克服するには,今後野生株を積極的に育種に取り入れていくことが必要となっている。そのために,エノキタケ野生株でVLPの有無を,簡単にチェックできる手法を開発することが重要である。

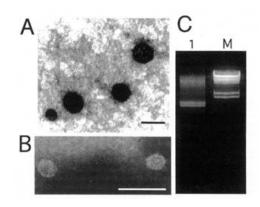


図2. VLPの電子顕微鏡写真とアガロースゲル電気泳動パターン

- (A) 酢酸ウラニルによる負染色 バー:50nm
- (B) リンタングステン酸による負染色。
- (C) 電子顕微鏡観察に供したVLPの遺伝子画分 のアガロースゲル電気泳動。レーン1:2本のdsRNA(大きさ1.9,1.8kb)が観察された。M:分子量マーカーDNA/HindⅢ