

Development of rapid detection and identification method of basidiomycetes in environment.

Kodai Hamaguchi

木材腐朽菌を含む担子菌類の種同定では、子実体形態および生育環境などの条件を合わせて判断するが、変異が大きく熟練者でも誤りやすい。子実体が得られない場合、コロニーや菌糸の形態的特徴が乏しいことから同定が著しく困難となる。そこで、DNA やタンパク質などの生体分子による同定が有効である。なかでも DNA は試験管内で増幅できることから高感度で検出可能である。DNA 配列を用いる担子菌の同定では、生菌株を得たのち生菌株を得たのち、ゲノム DNA を抽出して、これを PCR テンプレートに用いてマーカー遺伝子を増幅する。しかし、この手法は生菌株取得に時間がかかる他、菌株が得られない場合に適用できない。また、腐朽材や土壌中など PCR に不適である。環境中の担子菌では、生菌の単離が困難であり、かつ環境中の試料から抽出した DNA 試料は微量で夾雑物が多く PCR を阻害する。

そこで本研究では、生菌より抽出を介さずに PCR 産物を得る方法、また環境中の DNA 分子を検出、増幅する方法の確立を目的とした。生菌より抽出を介さずに PCR 産物を得る方法では、10 株の担子菌を供試菌とし、菌糸を直接テンプレートに用いたダイレクト PCR によってマーカー遺伝子の増幅を試みた。その結果、夾雑物の多い溶液からでも強い遺伝子増幅が可能な酵素、ダイレクト PCR に適応した酵素を用いることで遺伝子が増幅できることを明らかにした。また環境中の腐朽材から、抽出したゲノム DNA に対し非特異的増幅を行うことで、PCR での遺伝子増幅が可能となった。