

氏名	AHMED MOHAMED MAHMOUD AHMED		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	学術		
学位授与番号	博甲第4566号		
学位授与の日付	平成24年 3月23日		
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)		
学位論文の題目	Molecular and cytological karyotype of <i>Nectria haematococca</i> mating population I and inheritance mode of a 410-kb supernumerary chromosome in the genome (<i>Nectria haematococca</i> 交配群 I の分子的及び細胞学的核型とゲノム中の410-kb 過剰染色体の遺伝様式)		
論文審査委員	准教授 多賀正節	教授 鎌田堯	教授 高橋卓

学位論文内容の要旨

Karyotypes of a cucurbit pathogen *Nectria haematococca* MPI (anamorph, *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1) were studied with the two standard strains ATCC18098 and ATCC18099. Complete separation of all chromosomes by pulsed field gel electrophoresis (PFGE) was difficult due to both the large size and co-migration of chromosomes. Observation of meiotic chromosomes in asci resulting from the cross between the two strains showed that aggregation and clustering of chromosomes during different meiotic stages hinder accurate chromosome counting. Thus, it was concluded that karyotyping with meiotic chromosomes may lead to erroneous results. In contrast, reliable karyotyping was possible with mitotic metaphase chromosomes that were visualized by fluorescence microscopy combined with the germ tube burst method for sample preparation. For each strain, the basic chromosome number was $n=9$, which revises the previous chromosome estimate of $n=4$. The chromosomes were morphologically characterized by their length, protrusion of rDNA and intensely fluorescing segments, and idiograms integrating the morphological data were constructed for the two strains. Besides its basic chromosome complements, ATCC18098 had a mini-chromosome of ca. 410 kb present as a single copy in somatic nuclei. By using a newly developed method named the dropping method, it was revealed that this chromosome had a rod-like shape accompanied with terminal knobs on its both ends and was about 1.0 μm in length in early metaphase. Chromosome painting fluorescence *in situ* hybridization showed that DNA from the 410-kb PFGE band as a probe hybridized only to this mini-chromosome, indicating that it is not a derivative of the other chromosomes in the genome and is supernumerary. In addition, crossing experiments suggested that unlike other B chromosomes, the mini-chromosome was transmitted in a regular Mendelian manner to ascospore progenies.

This study is the first to present a reliable cytological karyotype of *N. haematococca* MPI, and the 410-kb mini-chromosome found here represents the smallest B chromosome so far visualized in fungi. The information and protocols presented in this study will contribute to the advancement of fungal cytogenetics.

論文審査結果の要旨

本論文は、ウリ科作物の重要病原菌である子囊菌*Nectria haematococca*交配群 I の核型及びゲノム中に存在する410-kb過剰染色体の遺伝様式に関する研究をまとめたものである。

著者はまず、パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) による分子的核型の解析を試み、標準的な2菌株の染色体構成に関する概略の知見を得た。また、そのうち1菌株のゲノム中にサイズが410-kbの微小染色体を見出した。次いで、減数分裂染色体と体細胞染色体を蛍光顕微鏡で観察し、細胞学的な核型解析を試みた。前者の観察では、これまで本菌の核型解析に用いられてきたパキテン期が正確な核型解析には不適であることを明らかにした。一方、後者では、染色体標本作製法と蛍光染色法を工夫することによって詳細な染色体観察を可能にし、染色体数決定やATリッチなヘテロクロマチン部位の情報を含むイデオグラム作成に成功した。また、菌株間における染色体多型の存在も明らかにした。さらに、PFGEによる解析で見出した410-kbの微小染色体については、染色体ペインティングFISH法を用いて顕微鏡下で同定し、この染色体がゲノム中のA染色体由来ではない過剰染色体であることを証明した。通常、菌類における過剰染色体は有性生殖において変則的な遺伝をすることが知られている。そこで、著者は410-kb染色体の遺伝様式の解析も実施し、この染色体がA染色体と同様にメンデル様式で子嚢胞子へ伝達されることを示した。

本論文中でなされたイデオグラム作成や微小な過剰染色体の細胞学的観察は菌学分野では先駆的な業績であり、その成果をまとめた原著論文は斯学のメジャー誌である米国菌学会誌に掲載予定 (印刷中) である。

以上、本論文は菌類のゲノム・染色体の研究に貢献するところ大であり、博士号の授与に値すると判定する。