

II. ツキヨタケ迅速検査法 PCR-RFLP 法及びリアルタイムPCR法の擬似混 合試料への適用

食中毒事例など、調理工程や摂取後の消化により DNA の分解が進んだ検体においても高い信頼性でツキヨタケの判別が可能な迅速判別法の開発を目的とし、より短い標的領域で判別可能な short PCR-RFLP 法とリアルタイム PCR 法を検討した。

本年度は、擬似食用きのこ試料を作成して行った。ツキヨタケについて、擬似食用試料（シイタケ、ヒラタケ、ムキタケの混合、および、シメジ、エリンギ、ナメコ、エノキの混合）中に混入するツキヨタケの検出可能性を確認した。検出方法は、Short PCR-RFLP 法およびリアルタイム PCR 法で行った。いずれの試料も加熱 30 分間および人工消化液 60 分間処理したものをダイレクト DNA 抽出した液を検体とした。

III. ツキヨタケ迅速検査法 LAMP 法の検討

LAMP_Tukiyo-F3(ID31) :

5' - GAAGCTTGGACTGTGGAG -3'

LAMP_Tukiyo-B3(ID31) :

5' - AAATGAAAGCAGACAGAGC -3'

LAMP_Tukiyo-FIP(ID31) :

5' - CGACTAATCCGGTTTCCGC

TTGCTGGCATCACTAGATGT -3'

LAMP_Tukiyo-BIP(ID31) :

5' - GACCTAAGCCTTGGTGTG

ATAATTGAGTTGCAGCTATCCCA -3'

の 4 本、および

LAMP_Tukiyo-F3(ID74) :

5' - TGCTTCTGAAGCTTGGACTG -3'

LAMP_Tukiyo-B3(ID74) :

5' - ACACCTCCACAGCTCTTTGA -3'

LAMP_Tukiyo-FIP(ID74) :

5' - CCGACTAATCCGGTTTCC

GCTGGCTTGCTGGCATCACTAG -3'

LAMP_Tukiyo-BIP(ID74) :

5' - ACGCCTTGGTGGTTTGACA

AGGAGACAGAGCAACCTGAGTTG -3'

の 4 本の、2 つの組合せで行った。

結果の判定は、可視光下での緑色蛍光の観察または可視光励起して蛍光を観察の 2 通りで行った。

C. 研究結果と考察

I. クサウラベニタケとその近縁種の ITS 及び RPB2 領域を用いた分子系 統解析

これまでに、ITS 領域のシーケンス解析の結果を用いてクサウラベニタケの系統分類を行ってきた。本年度は、系統分類解析の精度さらに高めて 2015 年に新たに公開されたデータベース上の配列から欧州のものと比較検討するために、本研究では RPB2 領域をシーケンス解析した。ITS 領域も上記データベース上の配列を加えて再解析した。その結果、図 1 に示すように、ITS 領域の系統分類では、欧州 *Entoloma rhodopolium* は *Entoloma nidorosum* に近いところに分類される。一方、日本の *Entoloma rhodopolium* はそれとは異なる 3 つのグループ (clade-I, -II, -III) に分類された。Clade-I は、*Entoloma majaloides* に近く、clade-II は最も欧州のそれに近いが、明らかに異なり、*Entoloma sinuatum* に比較的近い。形態学的には、*Entoloma sinuatum* と *Entoloma rhodopolium* は日本国内では区別して判定することは特に難

しいと考えていた。Clade-III は、他の 2 つの clade とは違い独立したグループを形成し、菌根菌 P09083 に近いグループに分類された。RPB2 領域を用いた系統分類でも同様の結果が得られた (図 2)。すなわち、日本国内から採取した *Entoloma rhodopolium* は 3 つのグループに分離し、clade-I, -II, -III はそれぞれ *Entoloma majaloides*, *Entoloma sinuatum*, 菌根菌 P09083 に近いところに分類された。以上の結果から、ITS および RPB2 の異なる 2 つのゲノム上の領域を用いた解析から、一致した分類結果が得られ、十分な精度で解析が行われていると考えられた。また、日本のクサウラベニタケ (*Entoloma rhodopolium* と考えられてきたきのこ) は *Entoloma rhodopolium* とは異なるものである可能性も示唆された。

II. ツキヨタケ迅速検査法 PCR-RFLP 法及びリアルタイム PCR 法の擬似混合試料への適用

昨年度、加熱、人工胃液処理した試料を用いて short PCR-RFLP を行った結果から、*Sfi*I 処理では、毒のツキヨタケのみが分解され、食用のシイタケ、ムキタケ、ヒラタケは分解されない。*Drd*II/*Hinc*II 処理では、逆に毒のツキヨタケは分解されず、食用のみ分解されて特異的なバンドパターンを示し、両制限酵素処理の結果を比較することで、確実に食毒判別が可能であることを示した。今年度は、多種の市販食用きのこ中に存在する毒のツキヨタケを検出できるか検討するために、擬似混合試料を (Table 1) 用いて、short PCR-RFLP 及びリアルタイム PCR 法を検討した。その結果、ツキヨ

タケを含む擬似試料では全てツキヨタケのバンドを検出でき (*Drd*II/*Hinc*II 処理)、また、リアルタイム PCR 法においてもツキヨタケのバンドを全てのツキヨタケ含有擬似試料で検出できた (図 3)。このことから、本 2 つの方法は、共に信頼性の高い方法であることが確認された。

III. ツキヨタケ迅速検査法 LAMP 法の検討

野外で適用可能な検査法の検討を行うために、PCR 反応の代わりに低温反応を用いる、LAMP 法による目視判別法を検討した。4 種のプライマーを用いて、検出はサイバークリーンで行った。その結果、図 5 に示すように可視光下に置いてツキヨタケのみに明確な緑色を示し、励起光下では強い緑色蛍光が観察された。今後は、検出感度や特異性を確認する必要があるが、定温で反応が行える LAMP 法をうまく活用することで、野外で使用可能な簡易検査法を確立できると考えられた。日本国内で、ツキヨタケと並んで中毒が多いクサウラベニタケについても今後検討する。

D. 結論

I. クサウラベニタケとその近縁種の ITS 及び RPB2 領域を用いた分子系統解析

日本国内でクサウラベニタケ (*Entoloma rhodopolium*) として採取されてきたものは、欧州の *Entoloma rhodopolium* とは異なることが判明した。日本の *Entoloma rhodopolium* は、*Entoloma sinuatum*, *Entoloma majaloides* などに近く、分類の再検討が必要と考えられた。

II. ツキヨタケ迅速検査法 PCR-RFLP 法及びリアルタイム PCR 法の擬似混合試料への適用

日本国内で中毒事例が多いツキヨタケの迅速検査法について、PCR-RFLP 法及びリアルタイム PCR 法のいずれも加熱、人工胃液消化処理した残渣から検出可能であり、また、多くの種類のきのこが混ざった食品擬似試料においても、特異的に検出可能であった。中毒防止だけではなく、原因の解明にも役立つことが期待される。

III. ツキヨタケ迅速検査法 LAMP 法の検討

きのこを採取する現場で検査ができる方法が、中毒防止には有効であることから、LAMP 法を用い、その結果を目視（緑色蛍光）で判定可能な手法を開発した。本法は、簡単なヒーターのみあれば実行可能な方法で、野外など検査の適応範囲が大きく広がると期待される。

E. 研究発表

1. 論文発表

Kazunari Kondo, Kozue Sakata, Saemi Obitsu, Kosuke Nakamura, Akio Noguchi, Nozomi Fukuda, Takumi Ishigaki, Tomoko Nishimaki-Mogami, Eiji Nagasawa, Reiko Teshima.

Molecular phylogenetics and genetic identification of *Entoloma rhodopolium* in Japan. *Mycologia*, revised.

投稿準備中（クサウラベニタケ分類および PCR-RFLP 法）

2. 学会発表

- 1) Kondo, K., Sakata, K., Nakamura, K., Noguchi, A., Fukuda, N., Ishigaki, T., Nishimaki-Mogami, Reiko. Rapid identification of poisonous *Entoloma rhodopolium* and edible *E. sarcopum* mushrooms using PCR-restriction fragment length polymorphism and real-time PCR. 7th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis, Prague, Czech Republic, 2015 年 11 月.
- 2) 菅野陽平、坂田こずえ、野口秋雄、中村公亮、小林友子、福田のぞみ、佐藤正幸、青塚圭二、鈴木智宏、最上知子、手島玲子、近藤一成：ツキヨタケの PCR-RFLP を用いた迅速同定法の検討（第 2 法）：加熱、消化処理サンプルへの適用、第 110 回 日本食品衛生学会 学術講演会、京都、2015 年 10 月

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

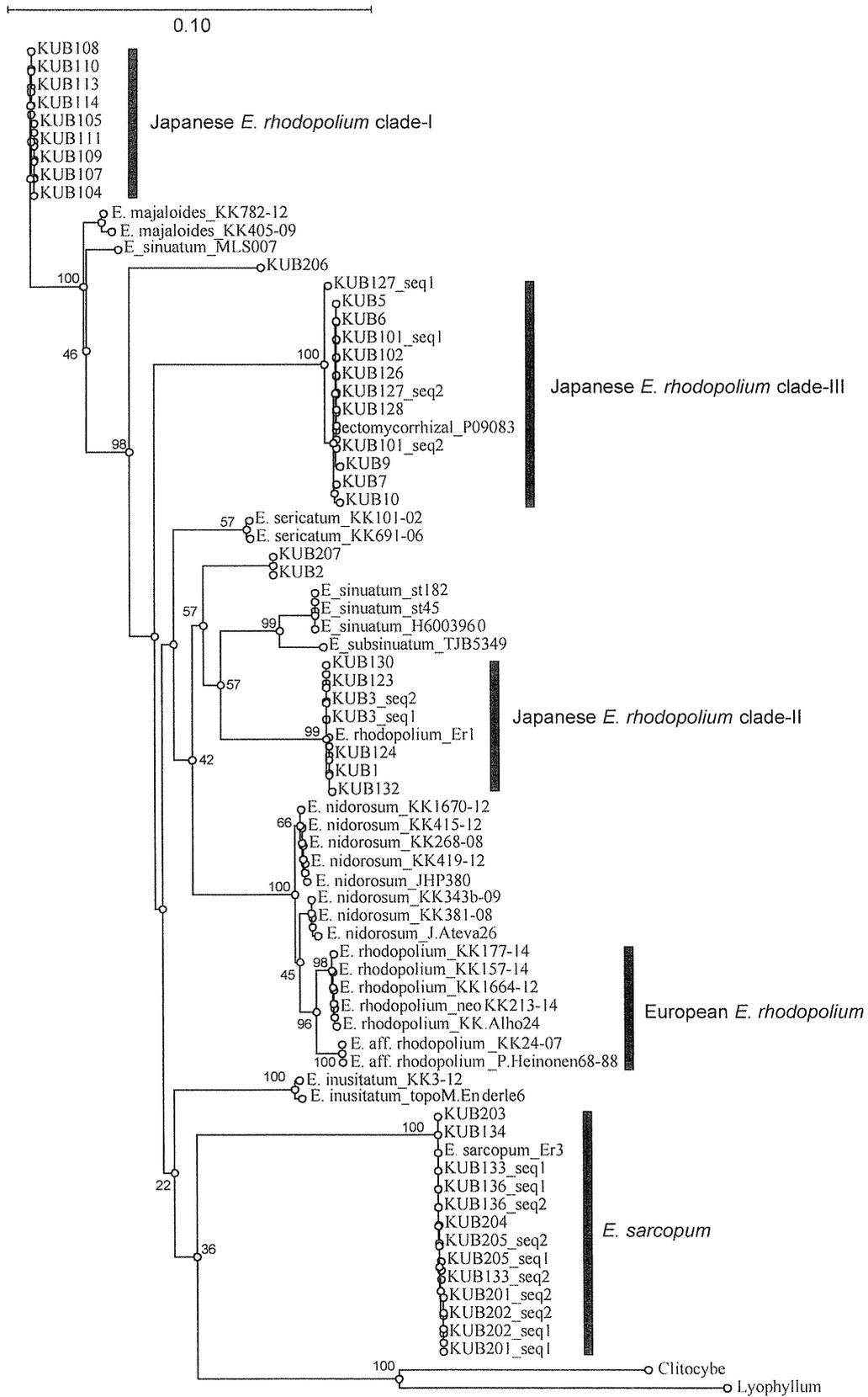


図1 ITS領域を用いた系統樹解析結果

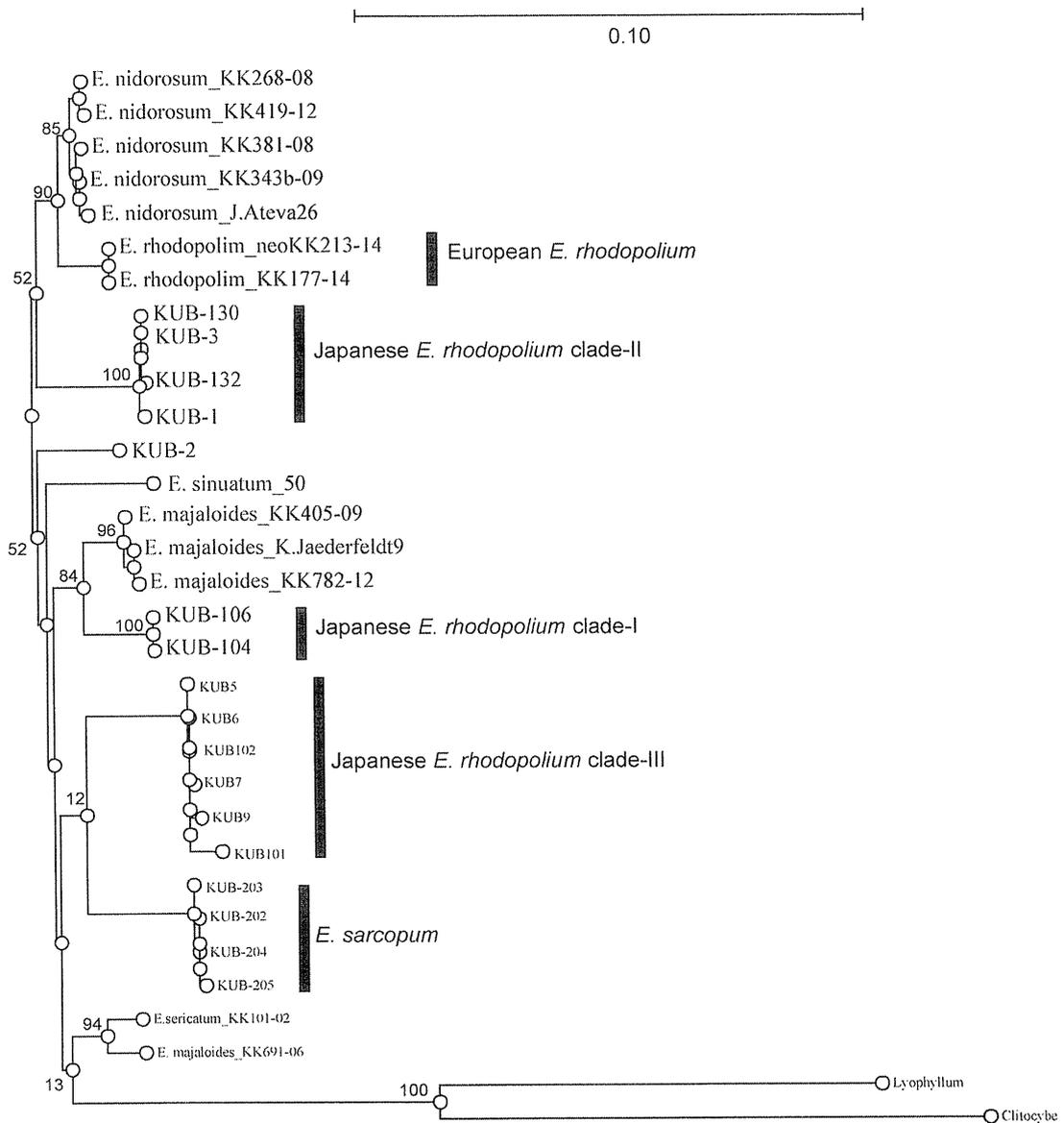


図2 RPB2領域を用いた系統樹解析結果

	Mix1	Mix2	Mix3	Mix4	Mix5	Mix6	Mix7	Mix8	Mix9
食用キノコA (シイタケ、ヒラタケ、ムキタケ)	100	-	-	50	-	25	40	47.5	50
食用キノコB (シメジ、エリンギ、ナメコ、エノキ)	-	100	-	-	50	50	50	50	50
ツキヨタケ (島根産、山形産)	-	-	100	50	50	25	10	2.5	-

Table1 擬似食品試料中の各きのこ割合

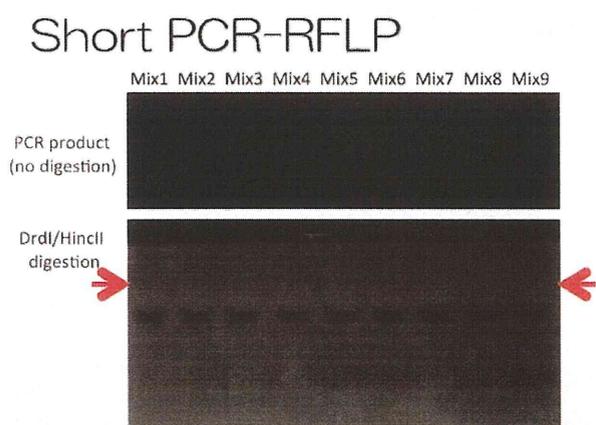


図3 擬似食品試料を用いたshort PCR-RFLP法の結果

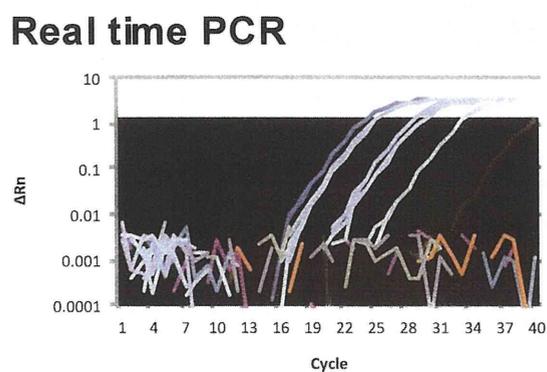
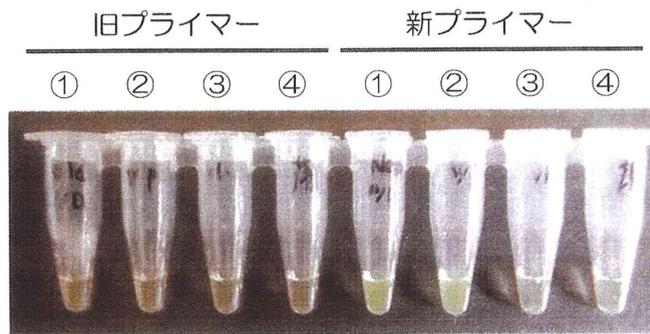


図4 擬似食品試料を用いたリアルタイムPCR法の結果

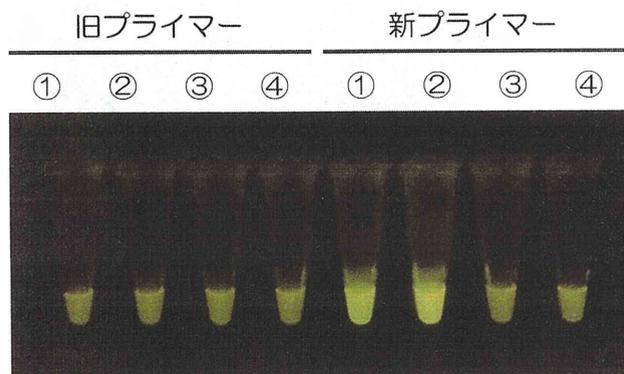
・可視光下



新プライマーのツキヨタケDNAを含むチューブのみ緑色

・UV下

シャッタースピード 1/25
F値 4.4



UV下においても、新プライマーのツキヨタケDNAを含むチューブで強い蛍光

図5 ツキヨタケのLAMP法を用いたオンサイト試験法

植物毒の毒性評価と毒成分分析・植物の遺伝子判別法開発

研究分担者 紺野勝弘 富山大学和漢医薬学総合研究所

研究要旨

- I. 昨年度から行っている「自然毒のリスクプロファイル」の改訂作業が終了し、現在 22 種の有毒植物種が掲載されている。
- II. レンゲツツジによる食中毒が初めて発生したので、「自然毒のリスクプロファイル」に追加掲載することを検討している。
- III. 有毒植物の遺伝子鑑別法を実際の中毒原因植物試料（コバイケイソウ）に適用し、本鑑別法が有効であることを確認した。

研究協力者 佐竹元吉 お茶の水女子大学生生活環境教育研究センター
篠崎淳一 昭和薬科大学天然物化学研究室

I. 有毒植物による食中毒情報収集

A. 研究目的

中毒事故の情報を収集し、事故の詳細を明らかにすることにより、今後の中毒防止対策の一助とする。特に、発生した現地に赴き、関係者と接触することで、現地でき得られない情報や原因植物試料の入手も可能となる。

B. 研究方法・結果

1. 中毒情報の収集

新聞などのメディア報道から現地の担当保健所を探し出し、連絡をとり、聞き取り調査を行う。必要に応じて、現地調査を行い、より詳細な聞き取り調査、発生現場の視察、原因植物の試料入手を検討する。試料が得られた場合は、毒成分分析や遺伝子

鑑別によって植物種を同定する。

2. 中毒原因植物の DNA 分析による同定

平成 24 年 4 月に石川県で発生した中毒の原因植物を入手し、以下の 2 通りの分析を行った（図 1）：(1) PCR-RFLP 法，(2) BLAST 検索による植物種の推定

(1) PCR-RFLP 法を利用した鑑別（図 2）

入手した植物（約 5 mm²）および Lysis Buffer (TaKaRa) 200 μL を 1.5 mL チューブに入れ、ペレットミキサーで組織を破碎した。組織破碎液 100 μL を新しいチューブに移し、Proteinase K 1 μL を加え、65°C で 5 分間反応後、98°C で 2 分間加熱し酵素を失活させた上清を PCR 反応の鋳型とした。

PCR 反応液は 50 μ L として調製した：鋳型 DNA (上記の上清) 2.5 μ L, プライマー対 (10 μ M; BG-rF1, BG-rR2) (プライマーの配列は表 1 参照) 各 1.25 μ L, 2 \times Gflex PCR Buffer 25 μ L, Tks Gflex DNA Polymerase (TaKaRa) 1 μ L, dH₂O 19 μ L。PCR 反応条件は, 94°C で 1 分間加熱後, 98°C で 10 秒, 55°C で 15 秒, 68°C で 30 秒を 30 サイクル行った。

PCR 反応終了後, 反応液の一部を制限酵素処理した。制限酵素反応の組成は以下の通り：PCR 産物 2 μ L, *Bgl*II 5 μ L, NEBuffer3 5 μ L, dH₂O 38 μ L。これを 37°C で 5 分間反応後, 反応液の一部 (15 μ L) を 3%アガロースゲル電気泳動し, UV 照射下バンドを検出した (図 3)。

(2) BLAST 検索による植物種の推定

入手した植物 (約 200 mg) を蒸留水でよく洗浄後, 液体窒素下, 乳棒・乳棒を用いてホモジナイズし, 1.5 mL チューブに移した。その後の操作は DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いて, プロトコールに従いゲノム DNA (200 μ L, 13~52 μ g/mL) を抽出した。

PCR 反応液は 50 μ L として調製した：鋳型 DNA 50 ng, プライマー対 (100 μ M; *trnH*(GUG)/*psbA* および *matK*2.1a/*matK*5) 各 0.5 μ L, 10 \times Ex Taq PCR Buffer 5 μ L, dNTP Mix (2.5 mM each) 4 μ L TaKaRa Ex Taq HS 0.25 μ L, dH₂O up to 50 μ L。PCR 反応条件は, 98°C で 10 秒, 55°C で 30 秒, 72°C で 60 秒を 30 サイクル行った。PCR 産物の一部 (5 μ L) を 1%アガロースゲル電気泳動し, UV 照射下バンドを検出した。

PCR 産物をゲル精製後, ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。サンプル調製の際に用いたプライマーは PCR 反応と同じものを用いた。塩基配列を決定した。得られた塩基配列 (*matK*) をクエリーとして, BOLD Systems の BOLD Identification Systems にて植物種を推定した。また, *trnH-psbA* intergenic spacer 領域の配列を GenBank/DDBJ/EMBL の BLAST 検索を行った。

C. 考察と結論

1. 中毒情報の収集

平成 27 年度に報告された有毒植物による中毒事例を表 2 に示す。

例年に比べ, 発生事例は少なかったが, イヌサフランによる死亡例が 2 件発生したのは特記される。また, レンゲツツジはこれまでに報告がなく, 本年度初めて発生したものである。レンゲツツジを含むツツジ科植物にはグラヤノトキシン類が含まれ, しばしば中毒事故が発生する。しかし, これまでレンゲツツジによる中毒は報告されていなかった。身近に豊富にあるので, 今後注意が必要である。

2. 中毒原因植物の DNA 分析による同定

平成 24~25 年度において, DNA 鑑別による迅速・簡便な植物種の同定法を開発した。本法は, 高価な機器を必要とせず, 操作が簡便であるため高度な実験手技を必要としないこと, また分析時間が短く (90 分以内), 結果 (電気泳動像) の解釈が容易であることなどの特徴があり, 保健所や医療機関などの現場において, 食中毒患者への初期対応と平行して行えるものと考えてい

る。

平成 24 年 4 月、石川県で発生した中毒の原因植物が入手できたので、本法を適用して、植物種の同定を試みた。

(1) PCR-RFLP 法を利用した鑑別

入手した中毒原因植物は形態学的な鑑定の結果、バイケイソウであると推定された。そこで、我々が以前に構築した DNA 鑑別法（バイケイソウ類とギョウジャニンニクを識別する PCR-RFLP 法）を適用した。

入手した植物の DNA を鋳型として PCR を行い、*rbcL* の部分断片を増幅した。PCR 増幅産物を制限酵素 BglIII で消化し、アガロースゲル電気泳動で分離した（図 3）。その結果、入手した植物由来の PCR 増幅産物は制限酵素により消化され、バイケイソウ由来の PCR 増幅産物と同様の泳動パターンを示すことが確認できた。

(2) BLAST 検索による植物種の推定

食中毒原因植物のゲノム DNA を鋳型として、*matK* (部分断片) および *trnH-psbA* intergenic spacer 領域を PCR にて増幅後、DNA シークエンサーを用いて塩基配列を決定した。得られた塩基配列をクエリーとし、DNA データベース (BOLD Systems, GenBank/DDBJ/ EMBL) の検索機能を用いてクエリーに最も近い配列を有する植物種を検索した。

塩基配列を決定した *matK* を BOLD Systems にて植物種を推定したところ、食中毒原因植物は *Veratrum oxysepalum* (バイケイソウ) であると推定された。また、*trnH-psbA* intergenic spacer 領域の配列を GenBank の BLAST 検索を行ったところ、

同様の結果が得られた。

以上の結果から、本 DNA 鑑別法 (PCR-RFLP 法) が、実際の中毒原因植物にも有効に適用できることを確認した。また、本法の結果が、形態学的鑑別および DNA バーコード (DNA 塩基配列情報) による生物種同定と矛盾しないことが示された。

II. 「自然毒のリスクプロファイル」の改訂

「自然毒のリスクプロファイル」は、植物毒による食中毒に対する注意喚起を目的に、平成 21 年度 (2009 年) に作成し、厚労省ホームページに掲載した。過去数年間に中毒事故が発生した 20 種を選び、植物の特徴、間違えやすい類似種、毒成分の分析法などを、種毎にまとめたものである。以来、アクセス数は多いものでは数万回を数え、また各自治体からのリンクも貼られ、かなり活用されている。しかし、この 5 年余りの間に一部データは古くなり、また新規に発生した中毒事例も出てきたので、昨年度全面的改訂に着手し、今年度完了した。

主な改訂点は以下の通り。

- ・「バイケイソウ」、「コバイケイソウ」は、一項目にまとめて、「バイケイソウ類」とする。
- ・「チョウセンアサガオ」は「チョウセンアサガオ類 1」に、「キダチチョウセンアサガオ」は、「チョウセンアサガオ類 2」に、それぞれ名称変更する。
- ・「患者数」の項には、最新のデータ (過去 5~10 年間、2004~2015 年) を掲載する。
- ・新項目として、「スノーフレーク」「ヒメザゼンソウ」、「シャクナゲ」の 3 種を加える。

- ・ 「イヌサフラン」, 「テンナンショウ類」の写真を変更または新たに加える。

この結果, 掲載種は 22 種となった (表 3-1)。今後は, 随時改訂することとし, 特に, 中毒事例が新規に報告された有毒植物については, できるだけ早く掲載し, 注意喚起に努める。現在, レンゲツツジを新たに加えることを検討している。

改訂例として, イヌサフラン詳細版を表 3-2 に示す。球根の誤食による事故が多いので, 球根の写真を新たに掲載した。発生件数、患者数等は、最新のデータに改めた。

III. 考察

中毒情報の収集は, 食中毒の実態を把握し, 注意喚起や啓蒙など, 中毒防止対策を立てるためにも重要である。今後とも日常的に情報収集に努め, その結果を中毒対策につなげたい。また, 「自然毒のリスクプロファイル」を充実させていくためにも重要である。事実, 今回の改訂ではこれまで中毒事例の報告がなく, 新規に発生した原因種 3 種を新たに掲載した。「自然毒のリスクプロファイル」は, 平成 21 年度 (2009 年) の開設以来, 多いものでは数万回のアクセスを数え, 各自治体からのリンクも貼られ, また, 報道機関からの問い合わせ, 写真等の転用掲載などに広く活用されている。今後は, 随時必要に応じて改訂し, 更なる改善・充実を図る。

有毒植物の誤食による食中毒はウイルスや細菌の汚染による食中毒と比較して, 発生件数や患者数は少ないものの致死率が高いため, 医療現場における初期対応がより重要となる。食中毒原因植物の同定は, 専門家による形態学的鑑定や原因成分の化学

分析が行われているが, しばしば結論に至るまで時間がかかり, 問題となっている。

そこで我々は, 遺伝子鑑別を活用した, 迅速・簡便な食中毒原因植物の同定法を開発することを目的に研究を行ってきた。その結果, PCR-RFLP 法を利用した遺伝子鑑別法により, 迅速・簡便な有毒植物鑑定法を確立した。今回開発した鑑別法の特徴は、1) 必要な機器が比較的安価であること、2) 操作が簡便であるため高度な実験手技を必要としないこと、3) 分析時間が短い (90 分以内) こと、4) 結果 (電気泳動像) の解釈が容易であることが挙げられる。また今回, 本法を実際食中毒を起こした調理済みのサンプルで検討し, 調理済みサンプルにも適用可能なことを確認した。したがって, 本鑑別法は, 保健所や医療機関などの現場において, 食中毒患者への初期対応と平行して行え, 原因種の推定・特定に有用なものと考えられる。

IV. 結論

有毒植物による食中毒情報を収集し, その結果をもとに, 「自然毒のリスクプロファイル」の改訂版を作成し, 厚労省ホームページに掲載した。

PCR-RFLP 法を利用した遺伝子鑑別法により, 迅速・簡便な有毒植物鑑定法を確立した。本法は, 高価な機器や高度な実験手技を必要とせず, 簡便な操作および短時間で, 容易に植物種を同定できるので, 食中毒患者への初期対応, 治療のためにも有用と考えられる。また, 調理済みサンプルにも適用可能なので, 従来の形態学的鑑定や化学分析と比較して有用性が高いと思われる。

V. 研究発表

特になし

VI. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

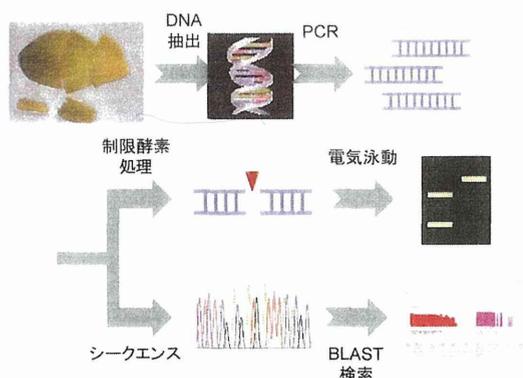


図 1. DNA 分析による中毒原因植物同定のながれ

表 1. 本研究で用いたプライマー

Primer Name	Direction	Sequence (5' to 3')
BG-rF1	forward	GTCTTGATCGTTACAAAGGACG
BG-rR2	reverse	CATTACGATAGGAACTCCCAATTC
trnH(GUG)	forward	ACTGCCTTGATCCACTTGGC
psbA	reverse	CGAAGCTCCATCTACCAATGG
matK2.1a	forward	ATCCATCTGGAAATCTTAGTTC
matK5	reverse	GTTCTAGCACAAAGAAAGTCG

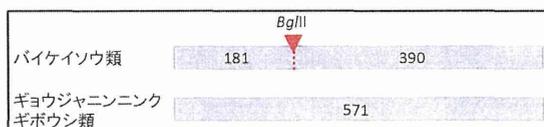


図 2. バイケイソウ類とギョウジャニンニク・ギボウシ類を識別するための PCR-RFLP 法

rbcL の部分断片 (571 bp) を増幅後、制限酵素 *BgIII* で処理すると、バイケイソウ類は切断されるため 181 bp と 390 bp の断片となる。一方、ギョウジャニンニク・ギボウシ類には *BgIII* 認識配列がないため、切断されない。

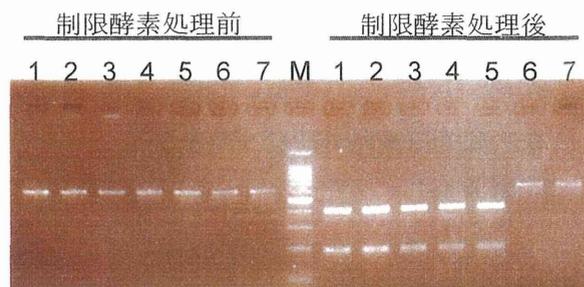


図 3. PCR-RFLP 分析のアガロースゲル電気泳動像

1 および 2, 入手した中毒原因植物; 3, バイケイソウ (2013 年 5 月に北海道で採集); 4 および 5, バイケイソウ (2013 年 6 月に福島県で採集); 6 および 7, ギョウジャニンニク (2013 年 6 月に青森県で採集); M, Bench Top 100bp DNA ladder (Promega). 3%アガロースゲルを TAE バッファー中で 30 分間泳動。

表 2. 平成 27 年度に報告された有毒植物による中毒事例

月日	場所	原因種	摂食者数	患者数	死者数
4月13日	岡山県	スイセン	3	3	0
4月16日	埼玉県	ハシリドコロ	1	1	0
5月1日	埼玉県	バイケイソウ	5	5	0
5月1日	東京都	シュロソウ	2	2	0
5月10日	新潟県	レンゲツツジ	1	1	0
5月16日	埼玉県	コバイケイソウ	1	1	0
5月27日	埼玉県	バイケイソウ	7	7	0
6月21日	北海道	イヌサフラン	1	1	1
9月10日	岡山県	ジャガイモ	12	10	0
9月22日	山形県	イヌサフラン	1	1	1
11月1日	静岡県	スイセン	4	4	0

研究成果の刊行に関する一覧表
(H27 年度)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版 年	ペー ジ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nguyen VH, Pham HT, Diep TT, Phan CD, Nguyen TQ, Nguyen NT, Ngo TC, Nguyen TV, DO QK, Phan HC, Nguyen BM, Ehara M, Ohnishi M, Yamashiro T, Nguyen LT, Izumiya H.	Vibrio cholerae O1 El Tor from southern Vietnam in 2010 was molecularly distinct from that present from 1999 to 2004.	<i>Epidemiol Infect.</i>	Nov 11	:1-7.	2015
				[Epub ahead of print] PubMed PMID: 26554547.	
Kazunari Kondo, Kozue Sakata, Saemi Obitsu, Kosuke Nakamura, Akio Noguchi, Nozomi Fukuda, Takumi Ishigaki, Tomoko Nishimaki, Mogami, Eiji Nagasawa, Reiko Teshima	Molecular phylogenetics and genetic identification of <i>Entoloma rhodopolium</i> in Japan.	<i>Mycologia</i> ,	revised.	投稿準備中	

