

# 豊かなLife(生)実現のための、 環境微生物由来の二次代謝産物(化合物) の活用に関する研究

家政学部 環境教育学科 藤森文啓・池田壽文

## 研究目的

*Aspergillus* 属菌は、酒類や発酵食品の醸造、医薬品等の生産の場で有用菌として利用されている。一方で、植物の病害や食品中にカビ毒を作る場合や、日和見感染症の原因菌やアレルギーとなるネガティブな側面も持つ。これまでの研究で、菌類には広くマイコウイルスが感染していることが知られており、*Aspergillus* 属菌に感染するウイルスの報告も近年増加傾向にある。本研究では、申請者や共同研究者が所有する国内有数の *Aspergillus* 属菌ライブラリーからマイコウイルスの探索を進め、将来的にはそれらが宿主菌へ及ぼす影響を評価するための基盤整備へ資することを目的とする。

本研究は 14000 株に及ぶ菌類ライブラリーを活用し、主に食品生産に利活用されている有用菌類、さらに植物・ヒトの病原性を有す菌類に感染するマイコウイルスの探索とその宿主に及ぼす影響(ウイルス感染の意義)を理解するための研究を推進する。特に有用菌類資源におけるマイコウイルスの多様性を理解するための研究には、これまで未発見のマイコウイルスの広範囲な同定に加え、ウイルスを保有する宿主体内でおこる生化学的変化、遺伝子発現変化などを総合的に理解する必要がある。

なお、得られた成果については、ウイルス感染が

宿主 *Aspergillus* 属菌に及ぼす正あるいは負の影響を評価するため研究プラットフォームへ活用していく予定である。具体的には、*Aspergillus* 属菌の発酵能や有用代謝産物の産生能あるいは病原性や毒素産生へのウイルス感染の影響を評価することを想定している。

本研究では、本邦 *Aspergillus* 属菌コレクションでのウイルス探索を実施した。具体的には、ウイルス感染の指標になる 2 本鎖 RNA (複製中間体) の存在の有無で一次スクリーニングを行い(現在進行中)、そのゲノム配列断片を取得することで *Aspergillus* 属菌ウイルスのカタログ化を行う。さらに、ウイルスの精製法の確立やウイルス多様性とその進化の一端を理解するための実験もあわせて進めるた。

- ①一次スクリーニングで得られた 2 本鎖 RNA を鋳型にした塩基配列の NGS 解析 (外注)
- ② NGS データの解析とウイルス候補配列の抽出(使用設備: 配列解析用端末)
- ③得られたウイルス候補配列の検証と RACE による末端配列の取得 (使用設備: シークエンサー)
- ④ウイルスの精製方法の確立 (使用設備: 超遠心分離器および透過型電子顕微鏡)
- ⑤ *Aspergillus* 属菌ウイルスの分子進化的な解析

(使用設備: 配列解析用端末)

*Aspergillus* 属菌コレクションにおけるウイルスの分布状況や多様性の評価 (使用設備: リアルタイム PCR)

## 結果・考察

*A.luchuensis* とは主に沖縄県で生産される泡盛の発酵に用いられる糸状菌である。黒麹菌 *A.luchuensis* が生産するクエン酸はもろみを強い酸性にすることから雑菌の増殖を抑えるため、高温多湿の地域での酒造が可能となった。当研究室では、保有する異なる地域から分離された糸状菌の ITS 遺伝子同定を行い *Aspergillus* 属菌と同定された株を、セルロースパウダーのカラムを利用した二本鎖 RNA ウイルス抽出と電気泳動による確認を行い、283 株のうち 24 株でウイルスの存在を確認するに至っている。そのうち 8 株が *A.luchuensis* であったことから、詳細な遺伝子配列決定を行ったところ、8 株にはそれぞれに複数の一本鎖 RNA ウイルスまたは二本鎖 RNA ウイルスが重複感染していることを見出した (Table 1)。

この結果から言えることは、菌類の多くは複数の

ウイルスに重複感染しているが、その多くのウイルスは不顕性感染であり、宿主に対してダメージを伴う感染をしていないことが判明した。しかしながら、中には、宿主の代謝系や生合成遺伝子群の発現に影響を与え、宿主の生育に影響を及ぼすウイルスも混在することが判明した (データ非公開)。そこで、今後は、これらのウイルスの構造 (アミノ酸配列) が不顕性感染ウイルスとどのように違うのかなどの解析を実施し、アレルギー原因宿主へのウイルスを用いたバイオコントロール技術の開発に繋げたい。

また、菌類には食品利用菌、病原菌などが多数存在する。ここで考えたいのは、ウイルスがいることが宿主に対して正の効果となるのか、負の効果となるのかである。食用の植物などのウイルスにおいては、ウイルスの感染が生育に影響を及ぼしているのであれば、そのウイルスの除去が重要な対策となる。ウイルスの感染自体がヒトにとって有益な機能を有しているのであればウイルスの存在がポジティブ効果にもなりうる。また、自然界に存在する菌類ウイルスの感染範囲は限定的であるが、人為的に感染を起こし、正でも負でもその効果をヒトが利用できるのであれば、産業上のビックバンとなりうる。

Table 1 各種 *A.luchuensis* 株に重複感染しているウイルス

グループ	グループ1					グループ2				グループ3
ウイルス種	narnavirus					partitivirus				altervirus
株/種類	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.1	No.2	No.3	No.4	No.1
<i>A.luchuensis</i> 38	○	○		○			○			○
<i>A.luchuensis</i> 50	○									○
<i>A.luchuensis</i> 56	○	○				○				○
<i>A.luchuensis</i> 58	○	○	○			○				○
<i>A.luchuensis</i> 66				○						○
<i>A.luchuensis</i> 68	○	○	○			○		○		○
<i>A.luchuensis</i> 71	○	○	○			○			○	○
<i>A.luchuensis</i> 157	○				○	○				○

○: シーケンスによりウイルスが確認できたもの。  
グループ1は一本鎖 RNA ウイルス。グループ2、3は二本鎖 RNA ウイルス