

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	麹菌Aspergillus oryzae産業用近縁株の大規模比較 -家畜化とゲノム進化-
Title(English)	
著者(和文)	渡来直生
Author(English)	Naoki Watarai
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11398号, 授与年月日:2020年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:山田 拓司,伊藤 武彦,北尾 彰朗,本郷 裕一,平沢 敬
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11398号, Conferred date:2020/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

# 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： 生命理工学 系  
Department of Graduate major in コース  
学生氏名： 渡来 直生  
Student's Name

申請学位(専攻分野)： 博士 (理学)  
Academic Degree Requested Doctor of  
指導教員(主)：  
Academic Supervisor(main)  
指導教員(副)：  
Academic Supervisor(sub)

要旨(和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

## 【序論】

麹菌は、アミラーゼやプロテアーゼの分解酵素活性が非常に強く、主に東アジアで発酵食品の製造に用いられる産業的に重要なカビである。中国で 3000 年前ほど前に真菌の産業利用が始まったとされる。日本では、室町時代の頃から種麹屋と呼ばれる種麹の保存と販売を専門に行う業者が存在している。現代では種麹は単離株として管理され、種麹屋は言わば産業用の菌株保存機関のような役割を果たしている。

麹菌として代表的な種が *Aspergillus oryzae* であり、日本では酒、醤油、味噌、甘酒、味醂などさまざまな発酵食品の製造に用いられる。用途によって種麹が使い分けられているが、それぞれの詳細なゲノム解析は行われていなかった。2005 年に *A. oryzae* RIB40 株の全ゲノムが解読され、これが現状唯一の *A. oryzae* の完全ゲノムとなっている。ドラフトゲノムでも本研究以外の株では 2019 年までに十数しか存在せず、全ゲノムレベルでの大規模な比較解析には不十分であった。

*A. oryzae* には近い近縁種として *Aspergillus flavus* があり、これらの間の比較解析がよく行われている。*A. flavus* は一部の株がカビ毒を生成することから、産業的、食品衛生的に重要な種である。*A. oryzae* と *A. flavus* は対照的な性質をもつにも関わらず、遺伝的に非常に近縁であるため、*A. oryzae* は *A. flavus* を人間が家畜したことによって無毒化、分化した種であるとする説がある。いくつかの研究により、*A. oryzae* は *A. flavus* の一部の系統から分化した単系統であることが示されたが、家畜化と種分化・無毒化の関係については諸説存在した。

また、*A. oryzae* 及び *A. flavus* は長らく無性種であると考えられてきたが、近年、*A. flavus* において、人為的な有性生殖が可能であること確認された。交配型(MAT 型)遺伝子など、*A. oryzae* RIB40 株においても有性生殖に必要とされている遺伝子が保存されていることが分かっているが、具体的な遺伝子機能は確認されていない。*A. oryzae* においても有性生殖の可能性があり、実験的手法の確立が試みられている一方で、ゲノム解析の面からも、有性生殖に関連する遺伝子の多様性や、有性生殖と種分化・家畜化との関係性を調査する余地があった。

本研究では、これらの諸説を大規模比較ゲノムによって検証するとともに、実際に家畜化が *A. oryzae* の進化に対して及ぼした影響について、文化的・産業的背景を踏まえながら遺伝子レベルで具体的に解析することを目的とする。

## 【*Aspergillus oryzae* のゲノム多様性】

本研究では、全国 5 箇所の種麹屋から取得した *A. oryzae* 産業用 82 株の全ゲノムシーケンスデータに対し、公開データとを含めて比較ゲノム解析を行った。

まず、全ゲノム、ミトコンドリア、アフラトキシン生合成遺伝子クラスターの系統樹推定を行った。その結果、各系統樹上で、単一の祖先株の変異蓄積のみで多様化したと考えられる株群からなるクレードがいくつか確認された。さらに、これらのクレードの全ゲノム・ミトコンドリア系統樹上の位置関係と MAT 型に不整合が見られたことから、これらのクレードは有性生殖によって分化したことが明らかになった。

次に、有性生殖がどの程度、どの段階で起こっているのか調べるために、ゲノム座位ごとに他クレードとの近縁度を計算した。その結果、どのクレードもゲノム座位ごとに近縁なクレードが異なっており、そのパターンは複雑なモザイク状であった。また、現存する産業用株間で親子のような関係は見つけれず、有性生殖は自然界において *A. oryzae* の祖先株間で起こっており、種麴として管理されている株間では起こっていないことが示唆された。

#### 【家畜化が *Aspergillus oryzae* のゲノム進化に及ぼした影響】

そのため、家畜化が *A. oryzae* のゲノム進化にもたらした影響は、有性生殖によるクレード分化後に集中していると考えられる。そこで、クレード内変異とクレード間変異の頻度を比較検定したところ、クレード内変異では非同義置換及びフレームシフト変異が有意に多くなっていることが分かった。産業用途による選択圧の一例として、色素関連遺伝子の LOF 変異は味噌用株が含まれるクレードで並行して起こっており、結果として白色変異株を生み出していた。一方で、プロテアーゼやアミラーゼなど、既知の有用遺伝子に関してクレード内変異は一切見られなかった。また、クレード内において、発酵機能の変化を伴うと推測されるいくつかのゲノム領域の重複・欠損が検出された。

#### 【結論】

本研究では、種麴屋における家畜化は、一部の形質を変化させる変異を集中させている一方で、一部の有用な形質に対して保守的であると結論づけた。そもそも種麴とは、その名の通り、継代による発酵機能の衰退を防ぐための、保存的役割をもつ存在である。その中で、目に見えてわかる変異体がピックアップされ、別の種麴として保存されてきた経緯が想像できる。このような文化的背景が、ゲノム解析の面からも垣間見ることができたのではないだろうか。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)  
Doctoral Program

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： 生命理工学 系  
Department of Graduate major in コース  
学生氏名： 渡来 直生  
Student's Name

申請学位(専攻分野)： 博士 (理学)  
Academic Degree Requested Doctor of  
指導教員(主)：  
Academic Supervisor(main)  
指導教員(副)：  
Academic Supervisor(sub)

要旨(英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

*Aspergillus oryzae* is an industrially useful species because of its strong amylase and protease activities. In Japan, *tane-koji* manufacturers possess various strains for industrial use; however, their genetic relationships remain unclear. *A. oryzae* was previously thought to be asexual and unable to undergo crossbreeding. However, recent studies revealed the sexual reproduction of *Aspergillus flavus*, a species closely related to *A. oryzae*. To investigate potential sexual reproduction in *A. oryzae* and evolutionary history among *A. oryzae* and *A. flavus* strains, I assembled 82 draft genomes of *A. oryzae* strains used practically. The phylogenetic tree of concatenated genes confirmed that *A. oryzae* was monophyletic and nested in one of the clades of *A. flavus* but formed several clades with different genomic structures. Linkage disequilibrium was observed between the topology of the phylogenetic tree of concatenated genes and MAT type, suggesting that clade divergence was caused not by mutation but rather by the recombination of different strains. In contrast, *A. oryzae* and *A. flavus* were not distinctly separated on the phylogenetic trees of single genes or mitochondrial genomes, meaning that those two species share the gene pool and recently diverged. The result of genome recombination analysis suggested that sexual recombination among domesticated species did not appear to have occurred during the domestication process, at least in the past few decades. Therefore, I hypothesized that the influence of domestication was more concentrated on the mutations or genomic rearrangements after clade divergence than that of before. Through inter- and intracladal comparative analysis, I found that evolutionary pressure induced by the domestication of *A. oryzae* appears to selectively cause non-synonymous and gap mutations in genes involved in fermentation characteristics, as well as intragenomic rearrangements, with the conservation of industrially useful catalytic enzyme-encoding genes.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).