

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02123

研究課題名(和文) 麹菌の多様な形質創出を阻む不和合性の分子基盤研究

研究課題名(英文) Studies on the molecular basis of incompatibility for creating the variety of industrial abilities in Koji mold *Aspergillus oryzae*

研究代表者

丸山 潤一 (Maruyama, Jun-ichi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任教授

研究者番号：00431833

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：糸状菌では、遺伝的に不適合である株どうしの細胞融合体が死に至る「不和合性」という現象が存在する。有性世代が発見されていない麹菌の交配育種法の開発において不和合性の現象は重要であり、本研究では麹菌の株系統が和合性グループと相関し、異なる系統の株間では不和合性であることを明らかにした。また、麹菌の不和合性により誘導される細胞死をミトコンドリアの分裂が制御することを、糸状菌で初めて明らかにした。この発見は細胞死のメカニズムの全容解明の糸口となり、麹菌において不和合性を抑制できる可能性を見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本の伝統的な醸造産業に使用されている麹菌において、有性世代による交配育種ができないことは長年の課題であり、そのなかで、遺伝的に不適合な株どうしの細胞融合で細胞死が起こる不和合性という現象は解決すべきステップである。麹菌には日本酒・醤油・味噌などの製造用途によって多様な実用株が存在するが、本研究ではその株系統が和合性グループと相関することを明らかにした。そして、不和合性の細胞死におけるミトコンドリア分裂の関与を糸状菌で初めて発見したことは学術的に重要であるとともに、麹菌の不和合性を抑制することで交配育種による多様な形質の創出ができるようになることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In filamentous fungi, there is a phenomenon called "incompatibility" where cell fusion leads to cell death between genetically incompatible strains. The phenomenon of incompatibility is important in the development of a sexual crossbreeding method for the industrial filamentous fungus *Aspergillus oryzae* in which no sexual cycle has been found. This means that it is quite difficult to create the variety of strain abilities for further industrial use. This study demonstrated that the strain phylogeny of *A. oryzae* correlates with the compatibility group. In addition, we found that cell death occurs in cell fusion between incompatible strains. Furthermore, it was revealed for the first time in filamentous fungi that mitochondrial division controls cell death induced by incompatible cell fusion. This discovery provided a clue to fully elucidate the cell death mechanism, and showed the possibility of suppressing incompatibility in *A. oryzae*.

研究分野：応用微生物学

キーワード：麹菌 不和合性 ゲノム編集 細胞融合 糸状菌

1. 研究開始当初の背景

糸状菌においては、有性生殖のみならず菌糸生長を行う栄養生長の時期でも細胞融合を行い、菌糸ネットワークを形成して、栄養分やシグナルをコロニー内で共有する性質を有している。一方で、遺伝的に不適合である株どうしで細胞融合を行うと、細胞死または生育阻害が起きる現象が知られており、これは「不和合性」と呼ばれている(図1)。その生理的な役割としては、融合した相手から感染したウイルスが拡散してくるのを防ぐなどがある。

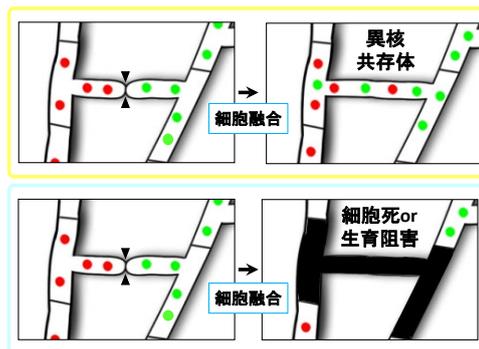


図1 糸状菌における和合性と不和合性

日本の伝統的醸造など産業的に重要な糸状菌である麹菌 *Aspergillus oryzae* は、交配育種によって多様な形質を生み出すことが困難であることが課題である。有性世代が見つからない *A. oryzae* においては有性生殖による交配育種が不可能であり、一方で、1990年頃にはプロトプラスト融合による疑似有性生殖を利用した交配育種が取り組まれてきたが、その利用は限定的であった。

我々は細胞融合の解析手法として、異なる栄養要求性株どうしの栄養要求性の相補によって融合細胞を検出する手法、ならびに BiFC 法による融合細胞を特異的に蛍光により可視化する手法を確立した(Tsukasaka *et al.* 2014; Okabe *et al.* 2018)ところ、*A. oryzae* で初めて不和合性の現象を発見した。*A. oryzae* の株系統情報をもとにそれぞれの系統からの代表株を選んで解析した結果、株系統と不和合性との関連を示すデータを得て、それぞれの麹菌株を和合性グループに分類することに成功した(Okabe *et al.* 2018)。

これらのことは、*A. oryzae* の交配育種において、不和合性により交配できる株の組み合わせが限定されることで形質多様性の創出が困難であることを意味している。不和合性の原因を除くすれば交配育種による形質多様性が創出できる可能性がある。しかしながら、糸状菌全般に対し適用できる不和合性の分子機構の知見は明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

糸状菌においては、遺伝的に不適合である株間で細胞融合体が死に至るまたは十分な生育ができない「不和合性」という現象が存在する。*A. oryzae* では食品醸造をはじめ様々な用途に多くの実用株が用いられており、我々はこれまでに、有性世代が発見されていない *A. oryzae* において交配育種法を開発する過程で、多くの株の組み合わせが不和合性であることを初めて発見した。これは、*A. oryzae* の交配育種による形質多様性の創出が困難であることを意味している。

本研究では、*A. oryzae* の形質多様性の創出を可能とする交配育種法の確立を目指し、これを阻む不和合性を制御する機構の分子基盤の解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 不和合性における HET ドメイン遺伝子の機能解析

A. oryzae のゲノムデータベースより、HET ドメインを含むタンパク質をコードする遺伝子(以下、HET ドメイン遺伝子)を検索した。野生株 RIB40 株と日本酒製造用株 RIB128 株の間と比較して、塩基配列の多型が見られる遺伝子を選んだ。塩基多型の HET ドメイン遺伝子について、 α -アミラーゼ遺伝子 *amyB* のプロモーターに接続して、RIB40 株および RIB128 株それぞれの *niaD* 遺伝子座にシングルコピーで導入した。取得した形質転換株を *amyB* プロモーターによる過剰発現の誘導条件で植菌して、生育への影響を調べた。

(2) 和合性グループの分類

酒類総合研究所の岩下博士らにより作製された *A. oryzae* 株の系統樹をもとに、13の株系統からこれらを網羅する34株を選んだ。*A. oryzae* におけるゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 システムによる高効率の遺伝子改変技術(Katayama *et al.* 2018; Maruyama *et al.* 2021)を利用し、ウリジン/ウラシル栄養要求性を付与する2種類の遺伝子 *pyrG* および *pyrF* について遺伝子破壊を行った。その際に、5-フルオロオロチン酸を含む培地を利用してウリジン/ウラシル栄養要求性株を選択的に生育させることで、34株すべてから *pyrG* および *pyrF* 各破壊株を取得した。異なる栄養要求性株どうしについて、ポリエチレングリコールによる強制的なプロトプラスト融合ののち、ウリジン/ウラシルを含まない最少培地での栄養要求性相補を指標に、和合性グループの分類を行った。

さらに、異なる栄養要求性株どうしが自然に細胞融合を起こす共培養条件下において、和合性

解析を行った。我々が以前に確立した細胞融合効率を定量化する方法(Tsukasaki *et al.* 2014)により行った。2つの異なる栄養要求性の *pyrF* と *pyrG* それぞれの遺伝子破壊株について、ウリジン/ウラシルを添加した最少培地で5日間共培養したのち、新しく形成した分生子を回収してウリジン/ウラシルを含まない最少培地に塗布した。栄養要求性相補を伴う細胞融合を介して形成された異核共存体の分生子のみが最少培地で生育することができる。生育したコロニーを計数することで細胞融合効率を定量化し、和合性/不和合性の関係は生育の有無によって判定した。

(3) 不和合性の細胞融合における生理的応答の解析

互いに不和合な株において、異なる色の蛍光タンパク質 EGFP および mCherry を発現して標識した。核・小胞体・ミトコンドリアについては、ヒストン H1・シャペロン BiP (BipA; Maruyama *et al.* 2005)・クエン酸合成酵素(AoCit1; Mabashi *et al.* 2006)それぞれを蛍光タンパク質と融合・発現して可視化した。これらの融合遺伝子等は、CRISPR/Cas9 システムを用いたノックインにより導入した。

我々が以前に明らかにした *A. oryzae* 株の細胞融合効率が向上する培地組成条件(Tsukasaki *et al.* 2014)を利用して、蛍光顕微鏡下で細胞質に発現した蛍光タンパク質が相手の細胞に流入した時間を基準に、細胞融合前後の蛍光量やオルガネラ形態の変化を観察した。

(4) 不和合性で誘導される細胞死におけるミトコンドリア分裂の機能解析

A. oryzae のゲノムデータベースに対して、ミトコンドリア分裂関連遺伝子のオルソログ *Aofis1*, *Aodnml1* について検索した。互いに不和合な株において、CRISPR/Cas9 システムにより遺伝子破壊を行った。取得した遺伝子破壊株について、異なる栄養要求性株 *pyrF* と *pyrG* それぞれの遺伝子破壊株どうしを強制的にプロトプラスト融合させ、ウリジン/ウラシルを含まない最少培地に塗布して栄養要求性相補による生育の有無を調べた。

また、遺伝子が破壊された不和合性株の組み合わせにおいて共培養を行い、異なる蛍光タンパク質が共存する細胞の存在から、細胞融合の有無を評価した。また、ミトコンドリアを可視化した株を用いて、融合細胞におけるその形態を観察した。

4. 研究成果

(1) 不和合性における HET ドメイン遺伝子の機能解析

一部の糸状菌では、特定の遺伝子の配列多型が不和合性の原因となることが明らかになっており、なかでも HET ドメイン(PF06985)をもつタンパク質をコードする遺伝子 (HET ドメイン遺伝子) が不和合性に関与する例が複数報告されている。しかし、多くの糸状菌で不和合性の原因遺伝子の同定には至っていない。我々は HET ドメイン遺伝子の機能を解析することで、不和合性との関連を解析した。

A. oryzae で 44 個存在する HET ドメイン遺伝子から塩基配列多型が見られる遺伝子を選び、不和合性である株間で異株発現を行った。不和合な組み合わせの野生株 RIB40 と日本酒製造用株 RIB128 において、塩基配列の異なる 37 個の HET ドメイン遺伝子を互いの株で過剰発現し、生育阻害を引き起こす遺伝子を探索した。

その結果、由来とは異なる株のみ特異的に強い生育阻害を引き起こし、由来する株では阻害を示さない2つの遺伝子を見いだした(図2; Mori *et al.* 2019)。RIB128 株に由来する AO090001000078 遺伝子は RIB40 株に対してのみ特異的に生育を阻害し、RIB40 株由来の同遺伝子は生育阻害を示さなかった。また、RIB40 株に由来する AO090701000370 遺伝子は RIB128 株に対してのみ生育を阻害し、RIB128 株由来の同遺伝子は生育阻害を示さなかった。さらに、このような異なる株での生育阻害効果について、その原因となる塩基置換の特定を行った。その結果、AO090001000078 遺伝子は2か所の塩基置換が、AO090701000370 遺伝子については1つの塩基置換がアミノ酸置換をとめない、株特異的な生育阻害の原因となることを特定した。*A. oryzae* 株間の塩基配列多型が単なる変異の蓄積でなく生理的な意味をもつこと

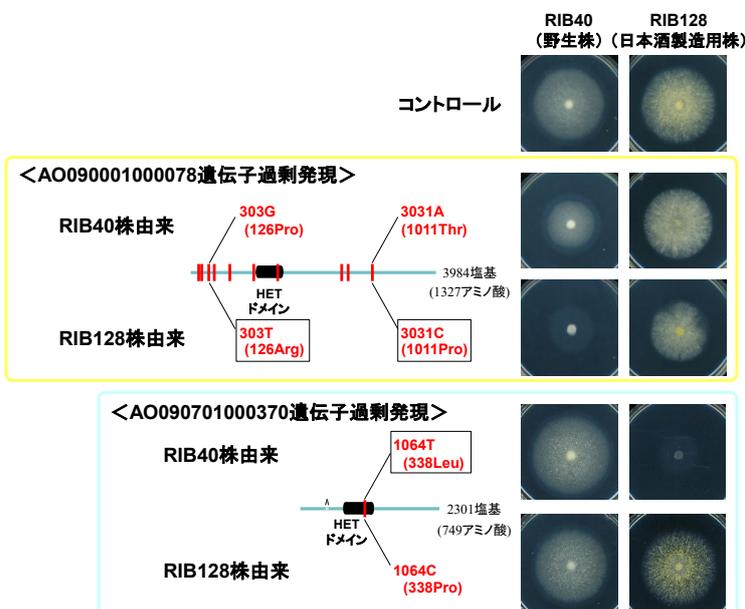


図2 HETドメイン遺伝子の異株発現による生育阻害

を明らかにした。

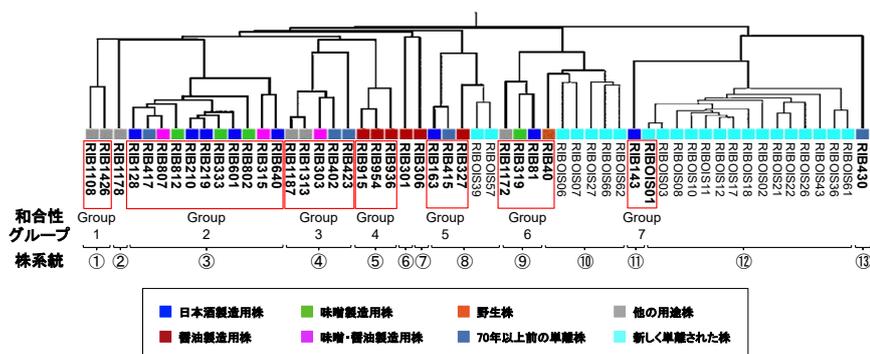
これらの生育阻害の原因となる塩基配列は、和合性の株どうしでは保存されているのに対し、不和合性の株においては置換している傾向が見られたことから、HET ドメイン遺伝子の異株発現により不和合性決定遺伝子の候補を見いだすことができた。これら配列多型の HET ドメイン遺伝子について、上記の互いに不和合な 2 つの株で CRISPR/Cas9 システムを利用して破壊株を取得したが、不和合性への関与は認められなかった。

(2) *A. oryzae* 株の和合性グループの分類

A. oryzae では食品醸造をはじめ様々な用途に多くの実用株が用いられており、これまでに我々は *A. oryzae* 実用株において不和合となる株の組み合わせが存在することを初めて発見した (Okabe *et al.* 2018)。前項では、互いに不和合な 2 つの *A. oryzae* 株をモデルとして、配列多型から不和合性に関与する遺伝子の候補を抽出したが、不和合性への関与は見られなかった。そこで、より多くの株を対象に和合性グループを分類してから、不和合性を制御する因子を探索する方針に転換した。ゲノム配列の情報から分類されている *A. oryzae* の系統すべてを網羅するように 34 株を選んで、栄養要求性の相補による不和合性の解析を行い、和合性グループの分類を行った。

CRISPR/Cas9 システムを利用して、ウリジン/ウラシル栄養要求性を付与する *pyrG* および *pyrF* の 2 種類の遺伝子破壊株を、すべての株から取得した。異なる栄養要求性株どうしに由来するプロトプラストを強制的に融合させ、栄養要求性の相補によるウリジン/ウラシルを含まない最少培地での生育の有無を指標に不和合性を判定した。その結果、基本的に異なる系統どうしの株では栄養要求性の相補が見られなかったのに対し、同じ系統に属する株どうしを融合させた場合には、最少培地での生育がみとめられた。すなわち、基本的に異なる系統に属する菌株の組み合わせは不和合性であり、同じ系統では和合性であることが示された (図 3)。

以上の結果から、株系統が麹菌の和合性グループと一致し、異なる系統の株間では不和合性であることを明らかにした。これは、多様な用途に用いられる麹菌株の不和合性を全体的に解明した初めての成果であり、今後の交配育種による機能開発に有用な情報を与える。



を見いだした。この結果から、不和合性が誘導する細胞死に、ミトコンドリアの断片化が関係している可能性が推測された。

(4) 不和合性で誘導される細胞死におけるミトコンドリア分裂の機能解析

不和合性で誘導される細胞死における、ミトコンドリア分裂欠損の効果の解析を行った。*A. oryzae* のミトコンドリア分裂関連遺伝子のオルソログ *Aofis1*, *Aodnm1* について、CRISPR/Cas9 システムにより遺伝子破壊を行った。取得した遺伝子破壊株について、異なる栄養要求性株どうしを強制的にプロトプラスト融合させ、栄養要求性相補によって最少培地で生育が見られるかを調べた。その結果、遺伝子破壊により不和合性の株の組み合わせで明確なコロニー形成はみられなかったが、顕微鏡下で栄養要求性が相補されて生育した菌糸が観察された。さらに、共培養下で自然に細胞融合が起こった遺伝子破壊株の異核共存体では、チューブ状の形態を示すミトコンドリアが観察された。すなわち、ミトコンドリア分裂関連遺伝子の破壊によって、不和合性で誘導される細胞死が部分的に抑制されることを示した。このようにして、不和合性により誘導される細胞死をミトコンドリアの分裂が制御することを糸状菌で初めて明らかにした。

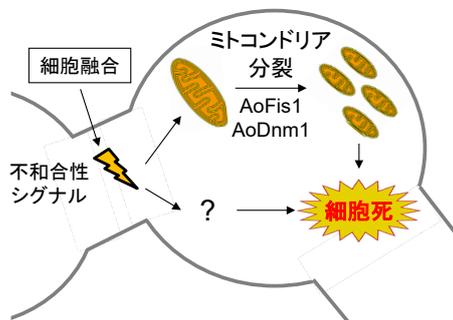


図4 麴菌における不和合性による細胞死の制御メカニズム

本研究におけるミトコンドリア分裂の関与の発見は、細胞死のメカニズムの全容解明の糸口として不和合性を抑制できる可能性を見だし、このような知見を利用して将来には *A. oryzae* の交配育種による多様な形質の創出ができるようになることが期待される。

<引用文献>

- J. Maruyama, S. Kikuchi, K. Kitamoto (2006) Differential distribution of endoplasmic reticulum network as visualized by the BipA-EGFP fusion protein in hyphal compartments across the septum of the filamentous fungus, *Aspergillus oryzae*. *Fungal Genet. Biol.*, 43, 642–654.
- Y. Mabashi, T. Kikuma, J. Maruyama, M. Arioka, K. Kitamoto (2006) Development of a versatile expression plasmid construction system for *Aspergillus oryzae* and its application to visualization of mitochondria. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 70, 1882–1889.
- W. Tsukasaki, J. Maruyama, K. Kitamoto (2014) Establishment of a new method to quantitatively evaluate hyphal fusion ability in *Aspergillus oryzae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 78, 1254–1262.
- T. Okabe, T. Katayama, T. Mo, N. Mori, F. J. Jin, I. Fujii, K. Iwashita, K. Kitamoto, J. Maruyama (2018) BiFC-based visualisation system reveals cell fusion morphology and heterokaryon incompatibility in the filamentous fungus *Aspergillus oryzae*. *Sci. Rep.*, 8, 2922.
- T. Katayama, H. Nakamura, Y. Zhang, A. Pascal, W. Fujii, J. Maruyama (2019) Forced recycling of an AMA1-based genome-editing plasmid allows for efficient multiple gene deletion/integration in the industrial filamentous fungus *Aspergillus oryzae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 85, e01896-18.
- N. Mori, T. Katayama, R. Saito, K. Iwashita, J. Maruyama (2019) Inter-strain expression of sequence-diverse HET domain genes severely inhibits growth of *Aspergillus oryzae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 83, 1557–1569.
- A. Tanaka, S. Kamiya, Y. Ozaki, Y. Kayano, S. Kameoka, S. Sanjay, F. Akano, A. Uemura, H. Takagi, R. Terauchi, J. Maruyama, A. Fleissner, B. Scott, D. Takemoto (2020) A nuclear protein NsiA from *Epichloë festucae* interacts with a MAP kinase MpkB and regulates the expression of genes required for symbiotic infection and hyphal cell fusion. *Mol. Microbiol.*, 114, 626–640.
- T. Katayama, Ö. Bayram, T. Mo, B. Karahoda, O. Valerius, D. Takemoto, G. H. Braus, K. Kitamoto, J. Maruyama (2021) Novel Fus3- and Ste12-interacting protein FsiA activates cell fusion-related genes in both Ste12-dependent and -independent manners in Ascomycete filamentous fungi. *Mol. Microbiol.*, 115, 723–738.
- J. Maruyama (2021) Genome editing technology and its application potentials in the industrial filamentous fungus *Aspergillus oryzae*. *J. Fungi*, Vol. 7, 638.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Katayama Takuya, Nakamura Hidetoshi, Zhang Yue, Pascal Arnaud, Fujii Wataru, Maruyama Jun-ichi	4. 巻 85
2. 論文標題 Forced Recycling of an AMA1-Based Genome-Editing Plasmid Allows for Efficient Multiple Gene Deletion/Integration in the Industrial Filamentous Fungus <i>Aspergillus oryzae</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied and Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 626-640
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AEM.01896-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 丸山 潤一	4. 巻 55
2. 論文標題 麹菌の交配育種の開発に向けて 細胞融合能の再発見・不和合性の発見・有性生殖の試み	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 温故知新	6. 最初と最後の頁 9-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mori Noriko, Katayama Takuya, Saito Ryota, Iwashita Kazuhiro, Maruyama Jun-ichi	4. 巻 83
2. 論文標題 Inter-strain expression of sequence-diverse HET domain genes severely inhibits growth of <i>Aspergillus oryzae</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1557 ~ 1569
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1580138	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 丸山潤一、片山琢也	4. 巻 97
2. 論文標題 麹菌における多様な醸造実用株の機能開発を可能とするゲノム編集育種	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生物工学会誌	6. 最初と最後の頁 203-206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jun-ichi Maruyama, Katsuhiko Kitamoto	4. 巻 8
2. 論文標題 The Woronin Body: A Fungal Organelle Regulating Multicellularity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The MYCOTA	6. 最初と最後の頁 3-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mamun Md. Abdulla Al, Katayama Takuya, Cao Wei, Nakamura Shugo, Maruyama Jun ichi	4. 巻 113
2. 論文標題 A novel Pezizomycotina specific protein with gelsolin domains regulates contractile actin ring assembly and constriction in perforated septum formation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Microbiology	6. 最初と最後の頁 964 ~ 982
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mmi.14463	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Aiko Tanaka, Shota Kamiya, Yoshino Ozaki, Shinichi Kameoka, Yuka Kayano, Sanjay Saikia, Fumitake Akano, Aiko Uemura, Hiroki Takagi, Ryohei Terauchi, Jun-ichi Maruyama, Hamzeh Haj Hammad, Andre Fleissner, Barry Scott, Daigo Takemoto	4. 巻 114
2. 論文標題 A nuclear protein NsiA from Epichloe festucae interacts with a MAP kinase MpkB and regulates the expression of genes required for symbiotic infection and hyphal cell fusion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Microbiology	6. 最初と最後の頁 626-640
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mmi.14568	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 丸山潤一	4. 巻 4
2. 論文標題 麹菌の細胞融合にともなう不和合性の発見とその制御機構の研究	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 885-890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takuya Katayama, Ozgur Bayram, Taoning Mo, Betim Karahoda, Oliver Valerius, Daigo Takemoto, Gerhard H Braus, Katsuhiko Kitamoto, Jun-ichi Maruyama	4. 巻 114
2. 論文標題 Novel Fus3- and Ste12-interacting protein FsiA activates cell fusion-related genes in both Ste12-dependent and -independent manners in Ascomycete filamentous fungi	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Microbiology	6. 最初と最後の頁 723-738
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mmi.14639	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 丸山潤一	4. 巻 -
2. 論文標題 麹菌をはじめとする醸造微生物のゲノム編集とその可能性	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 最新のゲノム編集技術と用途展開	6. 最初と最後の頁 84-91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 丸山潤一	4. 巻 -
2. 論文標題 ゲノム編集技術による有用物質生産麹菌株の開発とその課題解決	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ゲノム編集技術の産業応用技術	6. 最初と最後の頁 245-251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jun-ichi Maruyama	4. 巻 7
2. 論文標題 Genome editing technology and its application potentials in the industrial filamentous fungus <i>Aspergillus oryzae</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Fungi	6. 最初と最後の頁 638 ~ 638
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jof7080638	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takuya Katayama, Jun-ichi Maruyama	4. 巻 133
2. 論文標題 CRISPR/Cpf1-mediated mutagenesis and gene deletion in industrial filamentous fungi <i>Aspergillus oryzae</i> and <i>Aspergillus sojae</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 353-361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2021.12.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 丸山潤一	4. 巻 48
2. 論文標題 麹菌における細胞融合と不和合性の制御メカニズム	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 醤油の研究と技術	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 丸山潤一	4. 巻 -
2. 論文標題 麹菌におけるゲノム編集技術とその利用	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 発酵・醸造食品の最前線II	6. 最初と最後の頁 117-126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計40件（うち招待講演 20件 / うち国際学会 8件）

1. 発表者名 丸山 潤一
2. 発表標題 ゲノム編集が可能にした麹菌実用株の効率的で自在な遺伝子改変
3. 学会等名 糸状菌遺伝子研究会第39回例会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 丸山 潤一
2. 発表標題 物質生産宿主・麹菌で自在にかつ無限に遺伝子を改変する～ゲノム編集技術の進展
3. 学会等名 日本生物工学会2018年度大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 丸山 潤一
2. 発表標題 糸状菌のゲノム編集～麹菌実用株における高効率で自在な遺伝子改変の実現
3. 学会等名 発酵と代謝研究会 平成30年度第2回勉強会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takuya Katayama, Taoning Mo, Ozgur Bayram, Daigo Takenoto, Gerhard H. Braus, Katsuhiko Kitamoto, Jun-ichi Maruyama
2. 発表標題 An AoFus3-interacting protein FipC is a novel regulator of cell fusion in <i>Aspergillus oryzae</i>
3. 学会等名 30th Fungal Genetics Conference（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Abdulla Al Mamun, Takuya Katayama, Jun-ichi Maruyama
2. 発表標題 A novel gelsolin-like protein required for proper septum formation by regulating contractile actin ring formation
3. 学会等名 30th Fungal Genetics Conference（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤 直也、片山 琢也、南 篤志、及川 英秋、丸山 潤一
2. 発表標題 ゲノム編集を利用した麹菌Aspergillus oryzaeにおける異種二次代謝産物生産および生産性の向上
3. 学会等名 日本農芸化学会大会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菅原 由香、片山 琢也、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌A. oryzaeにおける有性生殖器官形成の誘導条件の探索
3. 学会等名 日本農芸化学会大会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 遠藤 章仁、藤井 陽平、中村 英淳、片山 琢也、小川 真弘、小山 泰二、北本 勝ひこ、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌Aspergillus oryzaeの菌核形成に必要な新規転写因子の制御機構の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会大会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 法子、片山 琢也、齋藤 亮太、岩下 和裕、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌Aspergillus oryzaeのもつHETドメイン遺伝子の不適合性における機能解析
3. 学会等名 日本農芸化学会大会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸山 潤一
2. 発表標題 ゲノム編集育種による麹菌における天然物大量生産プラットフォームの構築
3. 学会等名 科学研究費補助金 新学術領域研究（研究領域提案型）生物合成系の再設計による複雑骨格機能分子の革新的創成科学、第6回公開シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸山 潤一
2. 発表標題 ゲノム編集が拓く糸状菌の世界～麹菌の遺伝的多様性と自在な産業株育種の可能性～
3. 学会等名 微生物ウィーク2019（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸山 潤一
2. 発表標題 “ 麹菌 ” 日本の食に欠かせない微生物-その研究が解き明かす未知なる世界と可能性-
3. 学会等名 公益財団法人 野田産業科学研究所 第28回バイオテクノロジー教室講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Cell fusion and heterokaryon incompatibility: Variety of <i>Aspergillus oryzae</i> industrial strains used in Japanese traditional food fermentation
3. 学会等名 Asian Mycological Congress 2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌Aspergillus oryzaeの細胞機能と育種に関する基盤的研究
3. 学会等名 令和元年度日本醸造学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸山 潤一
2. 発表標題 ゲノム編集を利用した物質生産麹菌の多重代謝改変育種
3. 学会等名 令和元年度（2019年度）遺伝研研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Cellular potentials and genome editing-guided future of Aspergillus oryzae, the fungus used for Japanese traditional food fermentation
3. 学会等名 Pasteur Institute Seminar（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Microbiological Investigation for Future Brewing Innovation
3. 学会等名 Bordeaux - Tokyo Joint Workshop, Micro and nano-technologies for neuroscience, chemical engineering, and material characterization（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chan LU, Noriko MORI, Takuya KATAYAMA, Ryota SAITO, Kazuhiro IWASHITA, Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Evidence for the correlation between heterokaryon incompatibility and strain phylogeny in the industrial filamentous fungus <i>Aspergillus oryzae</i>
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Md. Abdulla Al MAMUN, Takuya KATAYAMA, Wei CAO, Shugo NAKAMURA, Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Identification of novel proteins regulating fungal cell-to-cell communication by localization screening of multicellularityspecific uncharacterized proteins
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yue CHEN, Takuya KATAYAMA, Ozgur BAYRAM, Gerhard H. BRAUS, Katsuhiko KITAMOTO, Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Study on a novel protein FipA as a possible scaffold for Fus3 MAPK cascade in the filamentous fungus <i>Aspergillus oryzae</i>
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 直也、片山 琢也、南 篤志、及川 英秋、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌におけるゲノム編集を利用した多重代謝改変による異種天然物生産性の向上
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 菅原 由香、片山 琢也、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌Aspergillus oryzaeにおける有性生殖関連遺伝子の高発現による有性生殖誘導の試み
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Genome editing-facilitated strain development in the industrial filamentous fungus Aspergillus oryzae
3. 学会等名 International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丸山潤一
2. 発表標題 ゲノム編集が変える麹菌の研究と機能開発
3. 学会等名 第198回酵母細胞研究会例会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丸山潤一
2. 発表標題 黄麹菌の細胞融合と不和合性の生物学～有性生殖による交配育種の実現に向けて
3. 学会等名 日本農芸化学会北海道支部 / 日本栄養・食糧学会北海道支部合同学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Chan LU, Noriko MORI, Takuya KATAYAMA, Ryota SAITO, Kazuhiro IWASHITA, Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Cellular dynamics upon cell fusion in the co-culture between compatible/incompatible strains in the industrial filamentous fungus <i>Aspergillus oryzae</i>
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原中 実穂、齋藤 直也、片山 琢也、南 篤志、及川 英秋、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌による異種天然物生産における分化制御因子の改変の効果
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤 直也、片山 琢也、南 篤志、及川 英秋、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌におけるゲノム編集を利用した代謝遺伝子多重導入による異種天然物生産性の向上
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 皆川 春香、片山 琢也、岡 大椰、小川 真弘、兒島 孝明、中野 秀雄、小山 泰二、北本 勝ひこ、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> における転写因子 TrsA と TrsB1 による菌核形成制御機構の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Md. Abdulla Al MAMUN, Kiyotaka HITOMI, Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Novel function of transglutaminases in wound protection at the site of cell-to-cell communication in fungal multicellularity
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 知見 悠太、山口 勝司、齋藤 直也、片山 琢也、重信 秀治、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌Aspergillus oryzaeが有する特異的な染色体領域の発見とゲノム編集技術CRISPR/Cas9による大規模欠損
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Genome engineering of Aspergillus oryzae (Koji mold)
3. 学会等名 World Microbe Forum (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Xueyan Sun, Haruka Minagawa, Takuya Katayama, Hiroya Oka, Masahiro Ogawa, Takaaki Kojima, Hideo Nakano, Katsuhiko Kitamoto, Jun-ichi Maruyama
2. 発表標題 Novel molecular mechanism mediated by Zn(II)2Cys6 transcription factors regulating sclerotia formation in the industrial filamentous fungus Aspergillus oryzae
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌の醸造・物質生産における機能開発の可能性
3. 学会等名 新化学技術推進協会 ライフサイエンス技術部会反応分科会 勉強会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌研究と糸状菌分生物学の20年とこれから
3. 学会等名 第20回糸状菌分子生物学コンファレンス（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Chan LU, Takuya KATAYAMA, Ryota SAITO, Kazuhiro IWASHITA, Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Mitochondria fission dysfunction alleviates heterokaryon incompatibility-triggered cell death in the industrial filamentous fungus <i>Aspergillus oryzae</i>
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤 直也、片山 琢也、南 篤志、及川 英秋、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌における異種テルペノイド生産に資する代謝経路の解明
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 浜中 祐弥、齋藤 直也、片山 琢也、黒田 裕樹、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌の同株どうしの対峙培養における増殖抑制に関与する因子の探索
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原中 実穂、齋藤 直也、片山 琢也、南 篤志、及川 英秋、丸山 潤一
2. 発表標題 麹菌による異種天然物生産における高生産因子の発見と機能解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jun-ichi MARUYAMA
2. 発表標題 Self- and non-self-recognition for cell fusion and heterokaryon incompatibility in the industrial filamentous fungus <i>Aspergillus oryzae</i>
3. 学会等名 31st Fungal Genetics Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京大学大学院農学生命科学研究科 醸造微生物学 (キッコーマン) 寄付講座ホームページ
<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/Brew-Microbio/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	北垣 浩志 (Kitagaki Hiroshi) (70372208)	佐賀大学・農学部・教授 (17201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ドイツ	Georg-August University, Gottingen			
アイルランド	Maynooth University, Maynooth			