

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26650148

研究課題名(和文) One Fungus One Name に対応した酵母の分類体系の完成

研究課題名(英文) One Fungus One Name (1F=1N) on yeasts

研究代表者

高島 昌子 (Takashima, Masako)

国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソースセンター・ユニットリーダー

研究者番号：20333304

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：2011年の国際植物会議で採択された国際藻類・菌類・植物命名規約により、菌類でも統一命名法が採用が決定されたため、従来二重命名法を採用していた高等菌類(子囊菌類および担子菌類)は統一命名法へ移行が必要となった。そこで国際間の協力と分担の下、新しい分類体系を構築した。さらに本課題では、表現型が乏しい酵母の新たな分類手法の開発のため、担子菌ハラタケ亜門Trichosporonales目をサンプルに、30遺伝子を用いた多遺伝子系統樹および全ゲノム配列に基づく系統樹を作成した。また共通遺伝子を用いた特性解析により属の特徴付けが可能であることを見出したため、確認後、広範囲の分類群に展開する予定である。

研究成果の概要(英文)：According to the "One Fungus = One Name (1F=1N)" principle implemented by the Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne code), yeast phylogeny is studied to reclassify the polyphyletic taxa under the collaboration with the yeast taxonomic community in the world. For making a backbone tree with high quality, we constructed phylogenetic trees based on (1) the 30 orthologous genes selected from draft genome data and (2) whole genomes, using the Trichosporonales species as an example. We also introduced to use the genome data for obtaining the traits/properties that distinguish one genus from the other, as anamorphic yeast taxa generally lack the morphological characteristic which has been employed for the most important taxonomic criterion in fungi. The data obtained suggests that our strategy would contribute to the taxonomy for other yeast taxa.

研究分野：微生物分類学

 キーワード：One Fungus One Name メルボルン規約 酵母分類 系統樹 ハイブリッドゲノム Trichosporonales目
Trichosporon属 ゲノム分類

1. 研究開始当初の背景

2011年の国際植物会議(メルボルン会議)において採択された“国際藻類・菌類・植物命名規約”(International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants <http://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php>)は規約名の変更や、電子出版が認められるなど多くのトピックスがあった(Nature News, 2011年7月20日)。中でも統一命名法の採用は、研究コミュニティーに大きい影響を及ぼすと思われた。新しい学名リスト採用までの流れとして、暫定的学名リストを2014年にタイで開催される国際菌学会に提出し、議論を経て2017年の国際植物会議で決定、とタイムテーブルも決まっていた。この緊急の課題に対応すべく、二重命名法を採用していた高等菌類(子囊菌類および担子菌類)では、菌類の分類・命名に関することを扱う International Commission on the Taxonomy of Fungi (ICTF)の下に、各専門部会により「属」と「種」の両方から検討し、どの学名を採用するかの作業が行われていた。

統一命名法の導入は学名に影響を及ぼす。その影響がどのくらい大きいかは菌群によって異なるが、酵母の場合、形態的特徴が乏しく多系統なアナモルフ属酵母を中心に、その約70%が当時の学名から変わると推定された。例えば、*Candida*属と*Cryptococcus*属については、「*C. albicans*が含まれるクレードを*Candida*属」と、また「*C. neoformans*が含まれるクレードを*Cryptococcus*属」とすると議論されていた。本内容は食品を含む応用分野や医学分野等の各方面から支持されると推定されるが、これは、同時に、これら以外のクレードの種は別の属に移され、学名が変わることを意味する。本研究を開始した当時では、このような種のうち、約半数については系統解析の結果から新しい帰属先が明らかになりつつあったが、残り約500種についてはまだ未定であった。

2. 研究の目的

この500種すべてについて、国際コミュニティーと連絡を密にとり、分担しながら、発表されている酵母の全種の属レベルの分類を、系統関係に従って再整理し、酵母全体として、One Fungus One Nameへの対応を2017年までに行うことを目的とした。

3. 研究の方法

研究を始めた当時、オランダの菌株保存機関のCentraalbureau voor Schimmelcultures (CBS)と中国科学院微生物研究所の共同により、AFTOL(米国NSFによるプロジェクト、Assembling the Fungal Tree of Life)で使われた遺伝子(rRNA遺伝子の3領域、およびタンパク質コード遺伝子4つの部分塩基配列)を使用した解析が開始されていた。我々も2012年から、担当部分であるTrichosporonales目のゲノム解析を開始し

ており、より多くの遺伝子を用いた多遺伝子解析系統樹、ゲノム全体を用いた系統樹、およびこれをバックボーン系統樹として制約付き系統樹などを作成することとした。また、必要に応じて、形態学的特徴や生理生化学性状の再チェックをThe Yeasts, A Taxonomic Study第5版に従って実施した。

4. 研究成果

4.1 Trichosporonales 目多遺伝子解析系統樹の作成

Trichosporonales目は60以上の種を含む。当時の分類では、本目に*Bullera*属や*Cryptococcus*属の種が混じっていた。これら2属の基準種は別の目(Tremellales目)にあるため、これら多系統の属の再分類が新しい分類体系の構築には必要であった。また、系統樹の基部に位置する種は系統学的位置が不明確であったため、これらの明確化も必要であった。

まず、*Trichosporon*属および関連菌類の17種について、それまでの研究で得ていたドラフトゲノムデータからAFTOL遺伝子(RPB1, RPB2およびTEF1の部分配列)を得て3遺伝子を連結した系統樹を作成した。この系統樹はLSU rRNA遺伝子のD1/D2領域に基づく系統樹等それまでに報告されているものよりは解像度がよかったが、*Trichosporon*属内でのOvoidesクレードの位置や、*Cryptococcus curvatus*の位置など、系統樹の基部の部分の解像度はあまりよくなかった。

そこで系統樹の解像度を増加させることを目的に、Rokas et al. (2003)を参考に、個々のドラフトゲノム配列全体から、近縁種間で配列が保存されており、かつアミノ酸配列で300残基以上のオーソログ遺伝子30個を選び、CDS領域を連結して系統樹を作成した。作成した系統樹は極めて解像度が高く、Trichosporonales目における供試した種の関係が明らかになった。また遺伝子毎に系統樹を作成し連結系統樹と比較して選んだ遺伝子の評価をしたところ、単独で使用してもAFTOL遺伝子より解像度が優れている遺伝子を得ることができた。

4.2 ゲノム系統樹の作成と分類学的考察

前述の30遺伝子からPCRプライマーを作成、サンガー法により対象菌株の塩基配列を決定することを当初予定したが、予算的にも労力的にも困難が推定された。また、この方法では、系統樹は作成できても、分類に重要である表現型の探索や検証には、さらに別の方法を講じなければならない。現在、国際的な流れとして、ゲノムデータの中に表現型を探す方向にあるため、この内容も目的に含めることとし、基部に位置する6種についてドラフトゲノム解析を計画し、これを実施した。

Trichosporonales目のゲノム系統樹を作成した。ゲノム解析を行った中で、*Trichosporon coremiiforme*、*Trichosporon*

ovoides 及び *Cutaneotrichosporon mucoides* はハイブリッドゲノムであったため、これらについてはサブゲノムを構築して系統樹作成に用いた。新規解析株を含む本目 27 種、及び外群として 3 種のドラフトゲノムデータを用い、オーソログ遺伝子を連結し約 230 万塩基に基づく最尤系統樹を作成した。得られた系統樹ではすべての枝が 100% の bootstrap 値を示し、信頼度の高い系統樹であった。また、Liu et al. (2015) の解析では明確ではなかった基部の種の系統関係が明らかになった。本結果に基づき、現在、2 つの新属候補の存在が明らかになっており、基部に位置するの種の詳細な解析の重要性が示された。

さらに、かつて *Trichosporon* 属とされていたおり、Liu et al. (2015) によって分割された属である *Apiotrichum* 属、*Cutaneotrichosporon* 属、および *Trichosporon* 属の 3 属のコア遺伝子を調べたところ、*Apiotrichum* 属のみが共通に有する遺伝子 27、および *Trichosporon* 属のみが共通に有する遺伝子 263 が得られた。本結果は、*Apiotrichum* 属および *Trichosporon* 属は共通遺伝子を用いての特徴付けが行える菌群であることを示しており、本手法が属の特徴付けに有効であることが示された。他の分類群へも展開するため、新規のゲノム解析も行い、ゲノムデータの充実も図っている。

なお、*Trichosporon coremiiiforme* および *Trichosporon ovoides* のハイブリッドゲノムについては、研究協力者により詳細な比較ゲノム解析が行われた (Sriswasdi et al. 2016)。

4.2 酵母国際命名サブコミッティーメンバーとしての活動

国際コミュニティにおける議論に誠意をもってまた精力的に取り組み、またできるだけ多くの情報を世界から得て国内コミュニティに報告し共有するため、メールによる情報交換の他に下記を行った。

《2014 年度》タイのバンコクで開催された第 10 回国際菌学会 (IMC10) に参加し、命名の委員会に出席した。また会議内で他のメンバーと分類体系に関する議論を行った。まだ議論中で結論がでていない分類群が多かったが、議論の概略を、第 21 回酵母合同シンポジウム、第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会、および第 8 回新産業酵母研究会講演会にて報告した。

《2015 年度》イタリアのペルージャで開催された International Specialized Symposium on Yeasts に参加し、発表するとともに、他のメンバーを含め研究者たちと、特にハラタケ亜門とサビキン亜門の分類体系に関する議論を行った。サビキン亜門の系統樹については、7 遺伝子系統樹の議論にも参加した。2016 年度に日本で開催の国際学会 14th

International Congress on Yeasts (ICY14) の分類セッションの準備を行った。

《2016 年度》淡路島で開催された国際学会 ICY14 において、酵母の分類のセッション 2 つをオーガナイズし、またシンポジウムで発表をおこなった。さらに ICY14 では、命名に関するワークショップも開催し、One Fungus One Name に関する議論、および酵母の分類の標準の書である *The Yeasts, A Taxonomic Study* の現行版 (第 5 版) の改訂と次版発行に関する議論を行った。また、日本微生物資源学会第 23 回大会、第 60 回日本医真菌学会総会・学術集会、および第 11 回日本ゲノム微生物学会において、受賞講演、シンポジスト、ポスター発表等を行った。

現在国際コミュニティでは、Hagen et al. (2015) によって提案された *Cryptococcus neoformans* - *C. gattii* の再分類に関して、賛成と反対の両立場から議論が行われている。賛成の立場に立ち、これに参加している。

引用文献

Hagen et al. 2015. *Fungal Genet Biol* 78: 16-48.

Liu et al. 2015. *Stud Mycol* 81: 85-147.

Rokas et al. 2003. *Nature* 425: 798-804.

Sriswasdi et al. 2016. *Genome Res* 26: 1081-1090.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

杉田隆, 張音実, 高島昌子. 病原性酵母の分類の現状 - 担子菌酵母 *Cryptococcus* と *Trichosporon* について -. *Medical Mycology Journal* 査読無 (印刷中)

高島昌子. 2016. 酵母の種多様性解析に基づく分類体系の再構築とゲノム分類手法の導入. *Microb. Resource. Syst.* 査読無 32:91-103. (日本微生物学会学会賞受賞総説)

高島昌子, 張音実, 杉田隆. 2015. 第 10 回国際菌学会 (IMC10) における酵母の菌種名に関する議論. *Medical Mycology Journal* 査読無 56:J81-J82.

Wang QM, Groenewald M, Takashima M, Theelen B, Han PJ, Liu XZ, Boekhout T, Bai FY. 2015. Phylogeny of yeasts and related filamentous fungi within Pucciniomycotina determined from multigene sequence analyses. *Stud. Mycol.* 査読有 81:27-53.

doi.org/10.1016/j.simyco.2015.08.002

Takashima M, Manabe R, Iwasaki W, Ohyama A, Ohkuma M, Sugita T. 2015. Selection of orthologous genes for construction of a highly resolved phylogenetic tree and clarification of the phylogeny of Trichosporonales species. PLOS ONE 査読有 10: e0131217. doi: 10.1371/journal.pone.0131217

〔学会発表〕(計 11 件)

高島昌子, Sira Sriswasdi, 西村祐貴, 眞鍋理一郎, 杉田隆, 遠藤力也, 岩崎 渉, 大熊盛也. ゲノムデータに基づく Trichosporonales 目の系統解析. 第 11 回日本ゲノム微生物学会, 慶應義塾大学湘南藤沢キャンパス, 藤沢市, 2017 年 3 月 2~4 日

高島昌子, 杉田隆. 病原真菌等 120 株のドラフトゲノムの公開とこれに基づく *Trichosporon* 属の全ゲノム系統樹. 第 60 回日本医真菌学会総会・学術集会, 東京都立産業貿易センター台東館, 東京都, 2016 年 10 月 1~2 日

Takashima M, Manabe R, Sriswasdi S, Iwasaki W, Endoh R, Ohkuma M, Sugita T. Upgrading a sequence-based yeast classification system: A genome-wide phylogenetic study of the order Trichosporonales. 14th International Congress on Yeasts (ICY14), 淡路夢舞台国際会議センター, 淡路市, 2016 年 9 月 11~15 日

高島昌子. 酵母の多様性および分類学的研究とそれに基づくゲノム情報の整備. 日本微生物資源学会第 23 回大会, 千葉大学けやき会館, 千葉市, 2016 年 7 月 4~6 日 (日本微生物学会学会賞受賞講演)

高島昌子, 遠藤力也, 大熊盛也. 担子菌系酵母の The Yeasts 第 5 版以降の分類体系変更の概要. 日本微生物資源学会第 23 回大会, 千葉大学けやき会館, 千葉市, 2016 年 7 月 4~6 日

高島昌子, 杉田隆. 全ゲノム情報に基づく *Trichosporon* 属の高解像度分子系統樹の提示 - 新しい分類体系構築に向けて. 第 59 回日本医真菌学会総会・学術集会, 札幌市, 2015 年 10 月 9~10 日

Takashima M, Manabe R, Iwasaki W, Ohyama A, Ohkuma M, Sugita T. A highly resolved phylogenetic tree of

Trichosporonales species based on multiple gene sequence analysis, International Specialized Symposium on Yeasts (ISSY32), ペルージャ, 2015 年 09 月 13~17 日

高島昌子. 国際菌学会 (2014 年タイ) 報告. 第 8 回新産業酵母研究会講演会, 産総研・臨海副都心センター別館, 東京都, 2014 年 10 月 17 日

高島昌子. 酵母の名称変更オーバービュー. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, ワークピア横浜・横浜産貿ホール, 横浜市, 2014 年 09 月 1~2 日

高島昌子, 杉田隆, 島純, 谷村あゆみ, 遠藤力也, 大熊盛也. 日本の酵母の種多様性と生物遺伝資源としての期待. 第 21 回酵母合同シンポジウム, 東京大学伊藤国際学術研究センター伊藤謝恩ホール, 東京都, 2014 年 9 月 3~4 日

Takashima M, Sugita T, Shima J, Tanimura A, Endoh R, Ohkuma M. Species diversity of yeasts in Japan: its potential as a biological resource. The 10th International Mycological Congress (IMC10), バンコク, 2014 年 8 月 3~8 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高島 昌子 (TAKASHIMA, Masako)
国立研究開発法人理化学研究所・バイオリ
ソースセンター・ユニットリーダー
研究者番号: 20333304

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者

遠藤 力也 (ENDO, Rikiya)
国立研究開発法人理化学研究所・バイオリ
ソースセンター・協力研究員
研究者番号: 90634494

杉田 隆 (SUGITA, Takashi)
明治薬科大学・薬学部・教授
研究者番号： 10312076

(4)研究協力者

眞鍋 理一郎 (MANABE, Ri-ichiro)
国立研究開発法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・上級研究員
研究者番号： 30280837

岩崎 渉 (IWASAKI, Wataru)
東京大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授
研究者番号： 50545019

大熊 盛也 (OHKUMA, Moriya)
国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソースセンター・室長
研究者番号： 10270597