

菌類に感染するウイルスは生活に役立つのか

東京家政大学 藤森 文啓

菌類（カビ・キノコ）は醗酵食品などの食品生産に古くから用いられてきました。ビール醸造、ワイン醸造などは紀元前4,000年くらいから、パンなどの製造は紀元前3,000年くらいから行われているとされています。醗酵生産の主体は酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）ですが、日本では糖化という工程には経験的に *Aspergillus*（世界的には *Rhizopus* などの他の属）が用いられてきました。その他、醗酵食品の中で糸状菌を使ったものではチーズも有名ですが、乳酸菌などの原核生物を使ったものも案外に多いのです。このように醗酵食品への糸状菌の活用は広く世界的で行われてきた歴史がありますが、日本の糸状菌の醗酵研究の先駆者である高峰譲吉は、明治時代に *Aspergillus oryzae* のデンプン糖化に着目し、その後に消化酵素製剤である「タカジアスターゼ」を販売したことはよく知られた話です。このジアスターゼは世界で初めての消化酵素製剤であったことは、その後の酵素学に大きな変革をもたらした点でも大きい功績であり、食品生産の工業利用を可能としました。また、日本が誇る別種の糸状菌としては焼酎生産に重要な *Aspergillus lechuensis* があげられます。沖縄などの亜熱帯地方では高温多湿なために日本酒のように *A. oryzae* では雑菌が混入するため使えないのですが、これもまた経験的にクエン酸生産をする *A. lechuensis* が選ばれ、雑菌混入がなく使われてきたという点でも、先人たちの感と経験がいかに素晴らしいものかを感じざるを得ないのです。高峰らが使用した菌株はアメリカの菌株保存機関（NRRL, Northern Regional Research Laboratories）に保管されています。また第2次世界大戦前に東大の坂口謹一郎らが保存した「クロコウ

ジカビ」の保存株は東大の分子細胞生物学研究所に保管されています。よって、これらの菌を用いた追試が今でも可能となっている点で日本の誇りです。このように、重要なのは食品生産に関わる菌類の活用は日本が世界的に誇る文化として今も先導的な立場で研究がなされているということです（表1, 2）¹⁾。欧米では *Aspergillus* 属菌がアフラトキシンなどのカビ毒産生菌として認知されていて食品利用などが認められません。一方、日本では伝統的に醗酵生産に表1に示す多くの種が利用されているという点で不思議です。

さて、菌類（糸状菌・担子菌）の利活用として二次代謝産物というのは上述の醗酵生産食品の製造への菌類の利用とは別に、人類にとって重要で画期的なツールで、どちらかと言えばその市場規模は大きい。ペニシリンの発見についても非常に有名な話ですが、第二次世界大戦中にイリノイ州で発見された *Penicillium notatum*（現在は *P. rubens* または *P. chrysogenum* であるとされている）

表1 醗酵食品類に用いられる糸状菌

生産物	醗酵菌種
日本酒	<i>Aspergillus oryzae</i> (黄麹菌) <i>Aspergillus niger</i> (黒麹菌)
焼酎	<i>Aspergillus luchuensis</i> (黒麹菌) = <i>Aspergillus awamori</i> <i>Aspergillus kawachii</i> (白麹菌) <i>Aspergillus usami</i> (黒麹菌) <i>Aspergillus saitoi</i> (黒麹菌)
醤油	<i>Aspergillus sojae</i> <i>Aspergillus tamarii</i>
味噌	<i>Aspergillus oryzae</i> (黄麹菌) <i>Aspergillus sojae</i>
米酢	<i>Aspergillus oryzae</i> (黄麹菌) <i>Acetobacter aceti</i> * <i>Acetobacter pasteurianus</i> *
味醂	<i>Aspergillus oryzae</i> (黄麹菌)
鰯節	<i>Aspergillus glaucus</i>
豆腐よう	<i>Monascus</i> 属 (紅麹菌)

* 酢酸菌（グラム陰性細菌）を含む

Fumihiko FUJIMORI

東京家政大学

〔著者紹介〕(略歴)平成4年日本大学大学院修士課程修了後、平成10年まで日本ロシユ(株)鎌倉研究所、その後、理化学研究所、東京理科大学助手を務め、平成16年より東京家政大学に勤務、現東京家政大学家政学部環境教育学科・教授。平成13年東京理科大学にて博士(工学)取得、平成16年東北大学学際科学研究センター客員助教授、平成23年より前橋工科大学非常勤講師、平成17年より玉川大学学術研究所菌学応用施設特別研究員、平成21年食の新潟国際賞「21世紀希望賞」「キノコ遺伝子データベースの波及効果」受賞。

〔専門分野〕ゲノム科学、細胞生物学、酵素学、微生物代謝科学

表2 麹菌酵素の工業利用

生産物	菌 種		
アミラーゼ	<i>Aspergillus niger</i> (黒麹菌)	<i>Aspergillus oryzae</i> (黄麹菌)	<i>Aspergillus luchuensis</i> (黒麹菌)
プロテアーゼ	<i>Aspergillus niger</i> (黒麹菌)	<i>Aspergillus oryzae</i> (黄麹菌)	<i>Aspergillus saitoi</i> (黒麹菌)
リパーゼ	<i>Candida</i> 属*, ケカビ*, アオカビ*, クモノスカビ*		<i>Aspergillus niger</i> (黒麹菌)
セルラーゼ	<i>Trichoderma viride</i> *	<i>Trichoderma reesei</i> *	<i>Aspergillus niger</i> (黒麹菌)
ヘミセルラーゼ	<i>Aspergillus niger</i> (黒麹菌)	<i>Aspergillus oryzae</i> (黄麹菌)	
ペクチナーゼ	<i>Aspergillus niger</i> (黒麹菌)		
ナリギナーゼ	<i>Aspergillus niger</i> (黒麹菌)		
タンナーゼ	<i>Aspergillus oryzae</i> (黄麹菌)		
アントシアナーゼ	<i>Aspergillus oryzae</i> (黄麹菌)	<i>Aspergillus niger</i> (黒麹菌)	<i>Penicillium decumbens</i> *

* 一部酵母菌, その他の糸状菌も含まれる

が生産するペニシリンが、人類初の抗生物質という二次代謝産物製剤として発見されたことは、カビ類の二次代謝産物活用に拍車をかけ、その後現在に至るまで糸状菌などの微生物は製薬企業などの医薬品開発のツールとなっています。二次代謝産物で医薬品として成立している微生物由来の化合物は様々ありますが、カビとは別の生物種（真核生物ではなく原核生物）である放線菌類からの発見も数多くあるという点では面白いものです。ゲノム配列の解読がシーケンス技術の発展に伴い飛躍的に進歩したことで、カビにも放線菌にも脂肪酸合成系のポリケチド遺伝子が存在し、その結果マクロライド系の化合物を生産するということがわかったことで納得がゆく結果となっているのです。マクロライド化合物以外にも、サイクリックペプチドや、それ以外の生合成化合物が数多く生理活性阻害などの生化学的な活性を有していることで、薬として成立しているのですが、合成化合物とは違い研究者が合成できない化合物を微生物が作りだしているということが生物の神秘という点でもとても面白いものです。少し天然物創薬のこれまでの話を書くと、抗生物質であるセファロスポリンが1948年に *Cephalosporium acremonium* より発見され、それ以降1990年代までサイクロスポリン、FK506、ラバマイシン、メバロチン、ミカフンジン、ロバスタチンなどのいわゆるブロックバスターと呼ばれる製薬会社としての儲け頭が次々と発見された時代がありました。このような天然物（微生物や植物）から見出されて上市した医薬品の開発がこの時代の流行でしたが、その後は大手製薬会社での天然物創薬開発が少なくなったのです。医薬品のトレンドが小分子の化合物から、中分子の化合物となった頃まではよかったのですが、その後は抗体医薬品などが脚光を浴びたことなども影響しているかもしれません。一番は開発コストだったのでしょうか。下火となったとは言え、このような二次代謝産物の創薬としての利活用は世界的に未だに行われているというのも事実です¹⁾。

表3 生物の発見種数と推定種数

グループ	既知種数	推定種数	既知割合 (%)
ウイルス	2,085	400,000	0.52
バクテリア	7,643	1,000,000	0.76
原生生物	53,915	1,200,500	4.49
菌類	115,998	1,525,000	7.61
陸上植物	297,857	390,800	76.22
動物昆虫	1,410,109	6,836,330	20.63

さて、話が変わりますが、この地球上には870万種から1,000万種の生物が存在すると言われており、これまで人類が発見に至っている生物種数は140万種程度とされています。すなわち約80数パーセントの生物種は未発見ということになるのです。菌類に限ってみると、推定種数は150万種と言われてはいますが、これまでに発見されているのは12万種程度で7.6%に過ぎないのです。菌類の発見種数12万種のうち、日本からはなんと1.23万種も発見されているのは驚きです。一方、植物などでは種の同定が進んでおり、推定種数39万種のうち既に約30万種がわかっています(76%)²⁾。動物に至ってはほぼ新種発見はないうくらいまでになっています(表3)。つまり、糸状菌類は90%以上が未発見であり、それらが何をしているのかを人類は知らないでいるのです。食品応用にも医薬品応用にも工業利用にもなり得る菌類の利活用研究は、今後も盛んに行うことが可能な有用資源と言えます。

地球上の生物という概念から少し離れますが、ウイルスという言葉に何を連想するでしょうか。そもそもウイルスは生物なのか無生物なのかという、禅問答のような議論は永遠に続いているのです。一般的なウイルスというものの認識は「悪者」でしょう。ウイルスに感染し高熱が出た。植物がウイルスに感染して商品価値がなくなった。鳥インフルエンザウイルスに感染して養鶏場が閉鎖した。など、ウイルスは宿主にダメージを与え、その結果が陰(負)の効果として表れることで良い印象を持たれていないので

す。この地球のウイルスの推定種数は40万種とされていますが、人類がこれまでに把握しているウイルスの種数はたったの3,000種に満たない（1%以下）のです（表3）。重篤な病気、症状を呈する原因が何であるのかという研究対象からウイルスは見つかったのですから、負の効果を呈するウイルスが優先的に報告された結果なのかもしれません。逆に、正の効果を呈するものは解析対象に上がっていないということかもしれません。

さて、本稿では担子菌（キノコ）、糸状菌に感染するウイルス（菌類ウイルス）が、食品生産においてどんな影響を与えるのかについて、推測の域を脱しませんが記述いたします。ウイルスはその構成遺伝子に、二本鎖DNA、二本鎖RNA、一本鎖DNA、一本鎖RNA（+と-）が存在します。ウイルスはセントラルドグマと言われるDNA→RNA→タンパク質という流れには逆行する反応であるRNA→DNA（逆転写酵素）を持ちながらも、最終的にはセントラルドグマに沿ってタンパク質（外被タンパク質など）をつくりながら、宿主の複製様式を拝借して生きているのです。菌類ウイルスにも上述の全てのタイプが発見されていますが、多くはRNAウイルスです。動植物に感染するウイルスも菌類に感染するウイルスもその構成遺伝子はさまざまですが、菌類ウイルスは病徴がはっきりしない不顕性感染であることが多いとされています。これまで、当研究室ではOMICS解析（ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなどの総称）を実施することで、機能未知の菌類ウイルスの解析を行ってきました。

まず一つには、食用キノコであるマイタケの全ゲノム解析と同時に、その発現遺伝子群のトランスクリプトーム（全mRNAの網羅的解析）解析を実施し、その両データを解析することで全遺伝子数の見積もりを行い、様々な生育条件や変異株での遺伝子発現解析をマイクロアレイによって行ってきました^{3)~12)}。このような解析の中で、トランスクリプトームデータをゲノムにマッピングする過程で、約800断片のコンティグ配列がゲノムにマッピングされないデータとして取得されました。当初、これらのアンマップデータはトランスクリプトームデータ取得時のサンプルコンタミネーションで、そのことで発生した疑陽性データであると考えましたが、詳細に検討した結果、宿主に寄生・感染している他の生物由来の遺伝子配列であることを発見したのです。以上の方法により、トランスクリプトーム情報に外来のRNAウイルス配列が混入していることを情報科学的に特定することを可能にした方法です。しかし、このような情報学的な差分解析によるウイルス検出は、研究対象となる生物種のゲノム情報とトランスクリプトーム情報が必須であり、遺伝子配列解析のコストが低下したと言っても、まだまだ一般

的な手法ではありません。

二つ目としては、これまで菌類ウイルスは宿主に対する役割については不明な点が多く、あまり研究がされてこなかったことで、その点を明らかとしたいと研究を行っています。前述の食用担子菌（マイタケ）より見出した2種のウイルスの機能解析から、ウイルス感染によって宿主側の挙動に変化があることを示してきたことから、糸状菌でも同じように形態学的な差異がなくても、生体内での挙動に変化が生じているであろうと考えています。そこで、当研究室で利用可能な土壌や植物、昆虫由来の分離糸状菌株、約23,000株を用いてウイルス解析を行っています。これらの保有菌株の中から、*Aspergillus*に関するウイルスチェックを実施したところ、多数の株にウイルス感染を確認できました（未発表データ）。同時にウイルスフリー株取得を行うことで、ウイルス感染、非感染株間の二次代謝産物や味、機能性に関して影響がないのかという問いに答えるために解析を行っていますので、その一部の結果および将来性について記述したいと思います。つまり食用利用されている菌に感染するウイルスが正負どちらに影響を与えているのか、もしくは何もしていないのかを探り、今後の食品開発に応用したいと考えているのです。

1) マイタケから見出された2種のウイルスについて

マイタケゲノムとマイタケトランスクリプトームデータをマッピングさせたところ、ゲノム中にマッピングされないmRNAデータが約800コンティグ存在し、そのアノテーション作業を行ったところ、2種のRNAウイルスのRdRpと相同性のある断片が存在することが判明し、最終的に2種の新規ウイルスがマイタケに重複感染していることを発見しました。一つは *Grifola frondosa partitivirus 1* (GfPV1) (図1) と命名し、もう一つは *Grifola*

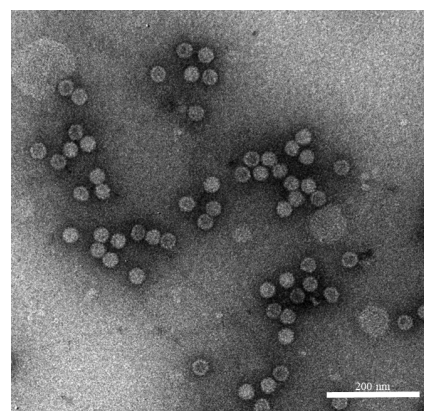


図1 *Grifola frondosa partitivirus 1* (GfPV1) のウイルス粒子

2%ウラニルアセテートネガティブ染色後、透過型電子顕微鏡で撮影。直径約37nmの球状の形態であることが判明した。

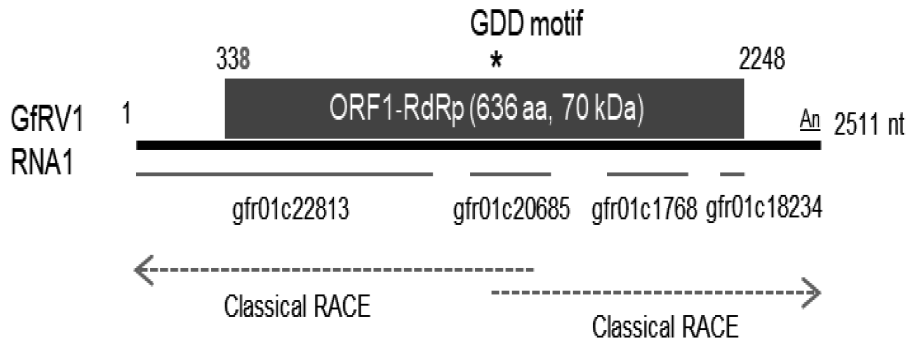


図2 Grifola frondosa RNA virus 1 (GfRV1) の概略図

黒く塗りつぶした部分はORFを、Anは3'-末端のポリA末端を示す。RACE法により全長の確認を行ったところ、一本鎖RNAウイルスであった。

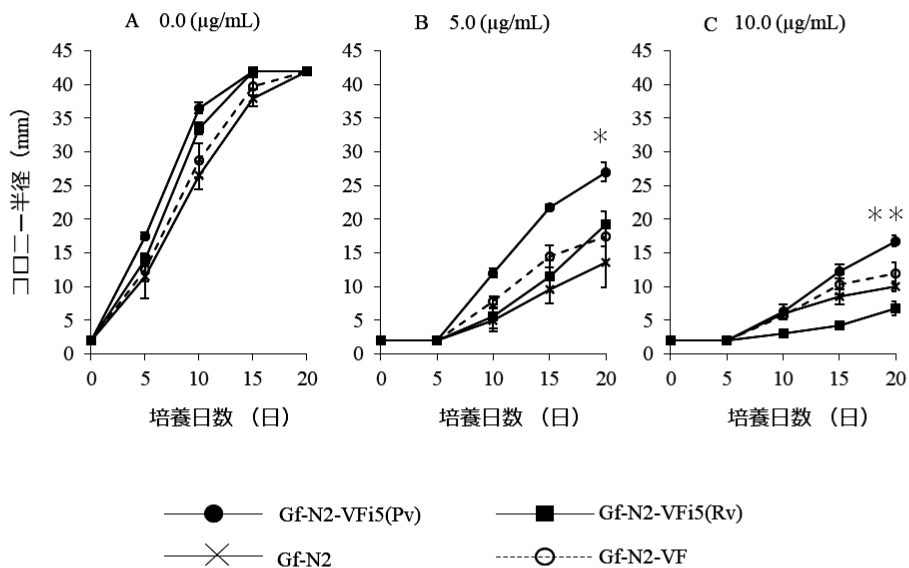


図3 Grifola frondosa RNA virus 1 (GfRV1) 感染株のシクロヘキシミドに対する挙動

Aはシクロヘキシミド濃度0.0 µg/ml, Bは5.0 µg/ml, Cは10.0 µg/mlでの菌糸伸長を計測した。GfPV1感染株は他のウイルスフリー株との間で優位な菌糸伸長差(*, **P<0.01)を示した。

frondosa RNA virus 1 (GfRV1) (図2) と仮称し、現在最終的な同定作業を行っています³⁾。この2種のウイルスの非感染マイタケ株の作出を行い、さらにはウイルスの再感染株(単独感染株)を作出し、様々な培養条件や薬剤処理による挙動を解析した結果、GfRV1は低温下にてその相対的なウイルス発現量が上昇すること(data not shown)、GfPV1では細胞内のタンパク質合成阻害剤であるシクロヘキシミドに対する感受性が上昇することが判明しています(図3)。すなわち、菌類ウイルスは不顕性感染ですが、上述のように詳細な解析を行うと、ウイルスの感染・非感染によって宿主側の挙動に変化が起こっていることが判明しました。菌類はヒトや植物のような複雑な器官を有しません。そのために菌類ではウイルス感染による症状が形態学的に見えにくいということがありそうです。さて、キノコの栽培現場の話を書くと、食用キノコの栽培は原木栽培や林地栽培などの露地栽培と、

栽培環境を調整し施設内で子実体を発生させる施設栽培に分けられます。近年は大規模な施設栽培が主流となり、市場に流通している代表的な食用キノコは人工栽培技術が確立され一年を通して食卓へ供給されています。日本国内における食用キノコの平成28年度の総生産量は約46万トンであり、エノキタケ(約13万トン)、ブナシメジ(約12万トン)、生シイタケ(約7万トン)、マイタケ(約5万トン)、エリンギ(約4万トン)の順で生産されています。キノコは多核であり、その結果菌糸培養の拡大培養の途中に、時として遺伝子の使われ方の偏りが生じて生育不良となることがあり、施設栽培現場において収量の減少、減収となり、栽培者は困っているというのが現状です。この遺伝子学的な原因は定かではないのですが、現状ではそのような不良株が発生した場合には全廃棄処分をしています。この遺伝子学的原因が何であるのかを探るために、マイタケにおいて全ゲノム解読、全遺伝子

(mRNA) の解析を行ってきましたが、不良株を特定するマーカー遺伝子を見つけることはできましたが、原因遺伝子の特定には至っていません。しかしながら、面白いことに不要株マーカー遺伝子として特定した遺伝子配列の一つが GfPV1 であったのです。このウイルスの感染が不良株の原因であると喜んだのですが、ぬかよろこびでした。つまり、ウイルスフリー株を作出し、ウイルス再感染株を作出しましたが、不良形成の表現型の確認に至らなかったのです。よってウイルスが原因で不要形質を呈していたという証明はできていません。生物は長らく原因となる遺伝子変異に晒されると、それを回避するために他の代替え遺伝子によって相補されることがよくあります。そのような回避作業が巧妙に仕組みられているものと思われ、前述のウイルスマーカーの発見も、ウイルスの特定と除去を行っても生育への影響が見取れないということかもしれないと考えています。すなわち、ウイルスの感染が恒常的に行われると、その陰（負）の影響がいつしか代替え遺伝子によって回避されて、宿主であるマイタケは表現型的にはなんら問題ないように、あたかも陽（正）の状態での生育できるようになっているのではないかと考えています。このような経緯があるために、マイタケに感染しているウイルスがどのような影響を宿主に与えているのかを探ることは重要なことです。食品としてのキノコの栽培やヒトへの機能性などに関しての解析に、菌類ウイルスの存在があることが判明したので、今後は陰（負）と陽（正）の効果について解析することが重要と考えています。

2) 焼酎生産に用いられる *Aspergillus luchuensis*

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す。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のです。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 (rRNA の 18S と 28S の間に存在する Internal transcribed spacer) 遺伝子同定を行い *Aspergillus* 属菌と同定された 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ます。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ました (表 4)。例えば、*A. luchuensis* 38 ではグループ 1 の一本鎖 RNA の Narnavirus の遺伝子配列が異なる No 1, No 2, No 4 と、グループ 2 の二本鎖 RNA の Partitivirus の No 2 およびグループ 3 のウイルス、合計 5 種のウイルスが重複感染していました。面白いことにグループ 3 の Altervirus は 8 株全ての *A. luchuensis* 株に存在していました。このように、前述のマイタケでもそうだったのですが、菌類ウイルスは複数のウイルスが重複感染しているのです。そして、こんなにも多くのウイルスが重複感染していても、不思議なことに宿主側の菌の表現型にはあまり影響を与えていないように思われます。これらウイルスは何もしていないのでしょうか。私たちが見る菌類の表現型に、ウイルス感染・非感染で差が現れないということは、前述のように相補遺伝子の存在で回避されているからかもしれないのです。見てわかりやすい表現型に違いが現れなくても、ウイルス感染が焼酎の味や品質に影響を与えていないとは言えないので、そのために代謝物や香氣成分や嗜好性の解析が急がれます (未発表データ)。

いくつかの菌類ウイルスは宿主の増殖阻害や重度の形態変形や変色などを引き起こすことがわかっています。栽培キノコなどの生産物に、生育不良の症状が現れた場合、品質損失および多大な経済的損失をもたら

表 4 各種 *A. luchuensis* 株に重複感染しているウイルス

グループ ウイルス種 株/種類	グループ 1 Narnavirus					グループ 2 Partitivirus				グループ 3 Altervirus
	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

す場合があります。また、菌類ウイルスが宿主の真菌の生育を阻害（病原力を低下）するという特徴を利用して、病原性糸状菌の拡大を抑える生物防除の一つのヴァイロコントロール（Viro control）が期待されています。植物に感染し枯死させる植物病原性糸状菌に対して低毒性（hypovirulence）を示す菌類ウイルスを感染させると、真菌の菌糸生育を抑制し、植物の中での真菌の拡大・増殖を抑制し、植物の枯死を防止する方法です。つまり、ウイルスがもつ負の効果により菌類の生育を抑えることが、結果的に植物の生育を旺盛にするという方法です。更に、菌類ウイルスの中には昆虫病原菌に感染するものもあり、昆虫の糸状菌のヴァイロコントロール因子としても着目されています。他に、菌類ウイルスは宿主生物に負の影響を示すだけではありません。例えば、地熱温度が高い土壌から採取された tropical panic grass (*Dichanthelium lanuginosum*) の植物内生菌である *Curvularia protuberata* に菌類ウイルス (*Curvularia thermal tolerance virus*: CThTV) が感染している場合、菌の宿主である植物が高温土壌でも生育することが可能となり、すなわち三者間での相互作用により宿主に耐熱性が付与されることが報告されています。ウイルス感染が正の効果を示している例です。他には、人工的に生産されている食用キノコからもマイコウイルスは検出されています。栽培キノコからマイコウイルスが初めて報告されたのは1962年で、*Agaricus bisporus* 子実体が形態異常を示している株から分離されて報告されました。それ以降は、子実体形態異常のエリンギ (*Pleurotus eryngii*) から球状の一本鎖 RNA (ssRNA) ウイルスが分離され、エノキタケ (*Flammulina velutipes*) の傘の色が茶色になる株から球状の二本鎖 RNA (dsRNA) が分離されています。キノコ傘が茶色になるブラウニングと呼ばれる症状は *A. bisporus* から分離されている Mushroom virus X (MVX) が感染した典型的な症状としても知られています。また、*A. bisporus* ではキノコの褐変、子実体の立枯れ、キノコの柄が水様になる等の La France 病に類似した症状を示す株からマイコウイルスが分離され、ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*) から dsRNA ウイルスが分離されています。また、シイタケ (*Lentinula edodes*) 子実体および菌糸体の無症状株からもマイコウイルスが見出され

ています。以上のような前例をみると、菌類ウイルスはやはり宿主に対して何らかの生理的変化を与えている因子である可能性が高まるのです。

さて、遺伝子組換えの是非もまた、永遠に終着点の見えない議論ですが、日本は遺伝子組換えには寛容的ではない国の一つです。外来の遺伝子が入り込むこと、人為的な操作という意味で敬遠されてきたからでしょう。そのような文化がありながら、昨今は少し違う方向性になっています。それはゲノム編集という技術によりこれまでの遺伝子組換えによる食品生産が変わりつつあるからです。これまで大豆やトウモロコシなどの穀類生産では、除草剤抵抗性の外来遺伝子の導入、機能性を付与するための外来遺伝子導入などが行われてきました。しかし、このような外来遺伝子の導入という遺伝子組換えでは、何が起るかわからないと主張する側と、安全であると主張する側との意見の相違により解決を見ない状況となっています。そもそも、品種改良とは遺伝子的にどんなことが起こっているものなのでしょうか。自然突然変異という現象で起る、人間にとって都合のいい変異が選抜されているのが、品種改良の一般的な方法です。この場合、外来の遺伝子の挿入ではなく遺伝子の機能が不全になるような変異ということになるかと思えます。ゲノム上にコードされている遺伝子には、その記述遺伝子から mRNA を読みだすためのスイッチ（転写因子が結合する上流配列）部位があり、遺伝子自体が何らかの変異で欠落する突然変異や、スイッチ領域の配列が欠落する突然変異によって、その遺伝子の機能が不全となり変異が起ると考えられます。しかし、そんな突然変異をスクリーニングして優良形質を選抜するには時間とコストが必要で、科学というよりは運です。つまり、これまで遺伝子組換えは消費者の反対が多く、自然突然変異による品種改良も時間がかかりどうにかできないかという現代、現れた技術が「ゲノム編集」技術ということになります。ゲノム編集をおおざっぱに言えば、ある狙った遺伝子の機能を不全にするために用いることのできる技術です。狙った部位の配列を、切断酵素を用いて切除して除去する技術ですので、外来遺伝子を導入するという遺伝子組換えとは異なるのです（表5）。令和元年9月19日、消費者庁は、ゲノム編集により作出した食品には、

表5 遺伝子組換え方法とその法的規制

	品種改良	遺伝子組換え	ゲノム編集	ゲノム編集
方法	自然突然変異	外来遺伝子導入	遺伝子欠失	外来遺伝子挿入
規制	対象外	組換え食品規制	任意の届け出	組換え食品規制
表示義務	なし	あり	任意	あり

ゲノム編集による遺伝子欠失法では届け出は任意であり、実質的に規制がない

食品表示義務を課さず任意の届け出でよいとアナウンスしました。その理由は、安全面においてこれまで行われて来ている自然突然変異とゲノム編集により遺伝子欠失させたものは同等であるし、その区別を追試することが出来ないということのようです。同じように、厚生労働省も届け出制度を設置するが、任意であって違反しても罰則はないとしています。海外、特に米国では規制は行っていませんが、欧米ではゲノム編集はすべて遺伝子組換えと同等に扱うべきで規制すべきであるとしています。この点もこれまでの遺伝子組換えに対する対応と全く同じ状況です。そのような意味で、今回の規制は緩和に近いものを日本では行ったということかもしれません（実際には賢明な判断だったと私は思っています）。

ウイルスの話に戻しましょう。ウイルスがウイルスであるという証明は、まずは宿主体に存在するウイルスを同定することから始まります。その後ウイルスがいない（ウイルスフリー）宿主を用意し、そこにウイルス接種をすることで感染性の確認を行います。その結果感染が確認できればウイルスがウイルスであるという証明ができます。一旦ウイルスが証明できるとどのような進展があるのかというと、まずウイルスの遺伝子配列がわかれば、PCR技術による遺伝子診断を行うことができるようになります。また、外被タンパク質を持つものであれば、その抗体を作成することで抗体によるウイルスチェックを行うことが可能となります。例えば、花などはメリクロン培養などにより優良形質のクローンを作ることが出来ます。その際に、ウイルス感染しているような場合には、根の先端細胞などをピックアップして培養することで、ウイルス除去をすることが出来ます。ある確率で成功しますが、その際にウイルスの遺伝子チェックや抗体チェックを行うことでウイルスフリーの培養細胞を確認できますので、その後はその細胞を拡大培養して元の植物体クローンを作ればウイルスのいない個体をいくらかでも作ることが可能となるのです。このようにウイルスの特定ができれば、検査体制が整うということになります。食品などの植物の世界に留まらず、全ての生物において同じことが言えるのです。これまでに発見されているウイルス種が3,000種足らずですので、推定種数の40万種まではまだまだです。今後ますます未知なるウイルスの特定が必要です。

菌類には食品利用菌が多数存在します。ここで考えたいのは、ウイルスがいることが正の効果となるのか、負の効果となるのかです。キノコ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りますが、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重要となります。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すが、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しようとした場合にはどのようなことが生じるのでしょうか。先の遺伝子組換えの話を出していただければと思います。自然交配で作出した遺伝子変異は誰もが認める遺伝子改変で、お咎めがありません。それが人為的な遺伝子改良の中でも外来の遺伝子を持ち込むという改変は、多くの人が敬遠し規制の対象となっています。では、ウイルスはどうなのでしょう？ チューリップのモザイクはチューリップモザイクウイルスが感染することで多品種のチューリップが生産されています。すなわちウイルスを活用しているわけです。

前述の焼酎生産に使われる *A. luchuensis* には驚くほど多くのウイルスが存在することがわかっていますが、ウイルス感染による味や機能性への変化はまだ解析できていません。しかしながら、*A. luchuensis* に感染しているウイルスの存在自体が、消費者にとってどう受け止められるのかによっては、ウイルスがいない *A. luchuensis* での焼酎生産というのは意義があることにもなります。つまり、ウイルスがいることでの効果の発見と同時に、ウイルスがいないことでの問題点の調査は必要と言うことになります。

最後に、国内の食品に使われている糸状菌（表1）以外に、世界を見渡せばもっと多くの糸状菌が使われています。私たちの暮らしに必須なものですが、ウイルス調査はされず、経験的に使われているからということでの疑念もなく使って食べているのです。ウイルスの存在を明らかとして、その正の効果、負の効果についてわかった時、私たちはその新たな使い方を生み出していくこととなると思うと、糸状菌ウイルスの研究はこれからだと思うのです。

参 考 文 献

- 1) 奥田徹. 菌類の産業利用とコレクション. 化学と生物. 2014, Vol. 52, 512-518.
- 2) Chapman, D. *Numbers of living species in Australia and the World*. 2nd edition. Report for the Australian Biological Resources Study. Canberra, Australia. Australian Government, 2009.
- 3) Komatsu, A.; Kondo, H.; Sato, M.; Kurahashi, A.; Nishibori, K.; Suzuki, N.; Fujimori, F. Isolation and characterization of a novel mycovirus infecting an edible mushroom, *Grifola frondosa*. *Mycoscience*. 2019, Vol. 60, 211-220.
- 4) Kondo, H.; Hisano, S.; Chiba, S.; Maruyama, K.; Ida Bagus, A.; Toyoda, K.; Fujimori, F.; Suzuki, N. Sequence and phylogenetic analyses of novel totivirus-like double-stranded RNAs from field-collected powdery mildew

- fungi. *Virus Research*. 2016, Vol. 213, 353-364.
- 5) Sato, M.; Kurahashi, A.; Nishibori, K.; Fujimori, F. Over-expression of a putative transcription factor *Gf.CRZ1* causes morphological defects in mycelium formation and affects the expression of oxalate-degrading genes in *Grifola frondosa*. *Mycoscience*. 2015, Vol. 56, 516-522.
 - 6) Sato, M.; Kurahashi, A.; Nishibori, K.; Fujimori, F. Development of a transformation system for the edible mushroom *Grifola frondosa*: Demonstrating heterologous gene expression and RNAi-mediated gene silencing. *Mycoscience*. 2015, Vol. 56, 364-372.
 - 7) Sato, M.; Kurahashi, A.; Nishibori, K.; Fujimori, F. Identification of differentially expressed genes in fruiting body mutants of *Grifola frondosa*. *The Bulletin of Tokyo Kasei University*. 2014, Vol. 54, 23-33.
 - 8) Kurahashi, A.; Shimoda, T.; Sato, M.; Fujimori, F.; Hiramata, J.; Nishibori, K. A putative transcription factor *Gf. BMR1* in *Grifola frondosa*, the homolog of *BMR1* in *Bipolaris oryzae*, was strongly induced by near-ultraviolet light and blue light. *Mycoscience*. 2014, Vol. 56, 177-182.
 - 9) Sato, M.; Kurahashi, A.; Takeda, A.; Uemura, Y.; Ezaki, M.; Nishi, T.; Nishibori, K.; Fujimori, F. High quality draft genome sequence analysis of the edible mushroom *Grifola frondosa*. *The Bulletin of Tokyo Kasei University*. 2013, Vol. 53, 17-30.
 - 10) Kurahashi, A.; Sato, M.; Nishibori, K.; Fujimori, F. Heat shock protein 9 mRNA expression increases during fruiting body differentiation in *Grifola frondosa* and other edible mushrooms. *Mycoscience*. 2013, Vol. 55, 98-102.
 - 11) Kurahashi, A.; Sato, M.; Kobayashi, T.; Nishibori, K.; Fujimori, F. Homologous genes, *Pe.pleurotolysin A* and *Pe.ostreolysin*, are both specifically and highly expressed in primordia and young fruiting bodies of *Pleurotus eryngii*. *Mycoscience*. 2013, Vol. 55, 113-117.
 - 12) Kurahashi, A.; Fujimori, F.; Nishibori, K. Analysis of gene expression profiles during cultivation of *Grifola frondosa*. *The Bulletin of Tokyo Kasei University*. 2012, Vol. 52, 17-32.