J S M *Mycotoxins*

www.jstage.jst.go.jp/browse/myco

Evolution of a fumonisin biosynthetic gene cluster in *Fusarium fujikuroi* species complex

Haruhisa Suga

JSM Mycotoxins, **65**(2):121-130 (2015)
<http://dx.doi.org/10.2520/myco.65.121>

JSM Mycotoxins is issued twice a year, one volume a year, by the Japanese Society of Mycotoxicology and the purpose of the journal is to publish results and technical information regarding mycotoxins. *JSM Mycotoxins* publishes Reviews, original results (Research Papers, Technical Notes, and Notes), Proceedings of special lectures, symposia, and workshops of the meeting of Japanese Society of Mycotoxicology

Japanese Society of Mycotoxicology
(http://www.jsmyco.org/MYCONTENTS/Eng/index_eng.html)

*Fusarium fujikuroi*種複合体のフモニシン生合成遺伝子クラスターの進化

須賀 晴久¹

¹岐阜大学生命科学総合研究支援センター（〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸1-1）

キーワード

イネばか苗病；ゲノム進化；糸状菌；トウモロコシ赤かび病；二次代謝産物；フモニシン；*Fusarium*

連絡先

須賀 晴久，岐阜大学生命科学総合研究支援センター，
〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸1-1
電子メール：suga@gifu-u.ac.jp

（2015年5月1日受付，
2015年5月9日受理）

要旨

フモニシンは*Fusarium fujikuroi*種複合体が産生するマイコトキシンで、ブタの肺水腫、ウマの白質脳軟化症の原因物質である。フモニシンの生合成に関わる遺伝子はゲノムにおいてクラスターを形成していることが明らかになっているが、このクラスターの成立や進化の過程には多くの疑問がある。ここではフモニシンの特徴などを紹介すると共に、産生菌にとってのフモニシンの役割及びフモニシン生合成遺伝子クラスターの進化を考察する。

はじめに

フモニシンは1988年に南アフリカの研究者グループによって*Fusarium moniliforme*（現在は*Fusarium verticillioides*）から初めて単離、ポリケチドの構造が明らかにされたマイコトキシンで^{1),2)}、ブタに肺水腫、ウマに白質脳軟化症を起こす。また、ヒトでは食道癌及び新生児神経管障害との関係が示唆されている³⁾。南アフリカの研究者グループと時を同じくしてニューカレドニアの研究者グループによってもフモニシン（以下で説明するB₁タイプ）はmacrofusineとの名称で独立に見出されている⁴⁾。フモニシンの名称は発見元となった菌種*F. moniliforme*（Wollenweber and Reinking（1935）⁵⁾とBooth（1971）⁶⁾の*Liseola*節に対応）に由来している。この菌種は小型分生胞子の連鎖状形成などを特徴とする菌をまとめたものであったが、本菌種内に独立した交配群や多数の分子系統群が見出されたため^{7),8)}、それら全てを*F. moniliforme*という一つの菌種で扱うべきではないとされている。*F. moniliforme*という菌種名は現在、国際的に使用停止が勧告されており⁹⁾、分離株は*F. fujikuroi*種複合体ないし、細分化後の菌種名で扱われている。

フモニシン構造の多様性

フモニシンには側鎖の違いに基づいてA（A₁～A₃タイプ）、B（B₁～B₄）、C（C₁～C₃）、P（P₁～P₃）シリーズがある（図1）。それらのタイプの違いの生物学的意義は不明であるが、最初に構造が決定され、また、自然汚染で最も主要なフモニシンはB₁である¹⁰⁾。Bシリーズを産生する*Fusarium*菌をトウモロコシなどの培地で培養すると、概して産生されるフモニシンは、全体量の70-80%がB₁、15-25%がB₂、3-8%がB₃とされている¹¹⁾。菌株数は多くはないものの、様々な*Fusarium*菌種のフモニシン産生能が調べられた結果、*F. oxysporum*の例外的な株を除き、フモニシン産生能が認められたのは*F. verticillioides*や*Fusarium proliferatum*など*F. fujikuroi*種複合体中の菌種に集中していた¹¹⁾。分子系統解析によれば*Fusarium*菌の系統進化においてフモニシン産生能が獲得されたのは、*F. fujikuroi*種複合体と*F. oxysporum*種複合体が分岐した中新世のころと推定されている¹²⁾。

植物病害とフモニシン

糸状菌はポリケチドや非リボソーム型ペプチド、テルペンなど様々な二次代謝産物を産生する。それらのうちの一部は植物や動物、他の微生物に毒性が

Fumonisin	炭素位		
	C-2	C-5	C-10
A ₁	N-acetyl	OH	OH
A ₂	N-acetyl	OH	H
A ₃	N-acetyl	H	OH
B ₁	NH ₂	OH	OH
B ₂	NH ₂	OH	H
B ₃	NH ₂	H	OH
B ₄	NH ₂	H	H
P ₁	N-hydroxypyridinium	OH	OH
P ₂	N-hydroxypyridinium	OH	H
P ₃	N-hydroxypyridinium	H	OH

図1 フモニシンの構造

基本骨格は20個の炭素からなる。但し、B₁, B₂, B₃の末端のメチル基部分が水素で19個の炭素の基本骨格からなるものがそれぞれC₁, C₂, C₃。

見られるが、生産している糸状菌にとっての利益が明確でないものも多い。例えば*Aspergillus flavus*が産生するマイコキシンのアフラトキシンは孢子産生力に関連している可能性も指摘されているが¹³⁾、菌の生育に必要なものではない。*F. verticillioides*はトウモロコシ赤かび病と呼ばれる植物病害の原因菌であり、宿主植物への感染におけるフモニシンの役割が検討されてきた。フモニシンは1-50 μMでトウモロコシやトマト苗の生育を阻害し、また、萎凋やクロロシスなども認められる³⁾。Glenn *et al* (2008)¹⁴⁾は人工気象室を用い、Silver Queenという感受性のトウモロコシ品種の苗で試験したところ、*FUM1* (ポリケチド合成) 遺伝子を破壊してフモニシン産生能を欠損させた株はフモニシンを産生する元株より病原性が低下したとしているが、Desjardins *et al* (2002)¹⁵⁾は同遺伝子破壊株のトウモロコシへの病原性は元株と違いがなかったと報告している。一方、トマトアル

タナーリア茎枯病菌*Alternaria alternata* tomato pathotypeが産生するフモニシンの構造類似体AAL toxinは病原性に重要な役割を担っており、宿主であるトマトに特異的な毒性を示す。

*F. verticillioides*はトウモロコシの病原菌であると同時に腐生菌でもあり、その生活環において他の様々な微生物との競合にさらされている。Keyser *et al* (1999)¹⁶⁾は9つの菌種に対するフモニシンの抗菌活性を調べた結果、*F. graminearum*や*Alternaria alternata*など*F. fujikuroi*種複合体以外の4菌種におけるフモニシンB₁の最小発育阻止濃度(MIC)は0.25-10 mMであったのに対し、*F. verticillioides*など*F. fujikuroi*種複合体中の4菌種と*Aspergillus flavus*の場合は、MICが少なくとも40 mMより高かったことを報告している。

Fusariumのフモニシン生合成遺伝子クラスター

フモニシンなどのマイコキシシンをはじめ糸状

菌の二次代謝の産生に関わる遺伝子はゲノム上でクラスター化しているものが多い。クラスター化していることのメリットの一つは、複数の関連遺伝子を同調的に発現させられるためと考えられている¹⁷⁾。例えば*Aspergillus parasiticus*のアフラトキシン生合成遺伝子クラスター中の遺伝子はクラスター外への移動により通常レベルの発現ができなくなっている¹⁸⁾。

このような遺伝子クラスターはどのように獲得されたのであろうか？ある生物が新たな二次代謝産物の生合成遺伝子クラスターをゲノム中に獲得する過程には、大きくゲノム内因説と外因説がある。内因説の場合、進化の過程で関連遺伝子が、重複や転移によりゲノムのある位置に集合することで遺伝子クラスターが形成される。トリコテセンを産生する*Fusarium*においては、進化の過程で*Fusarium equiseti*系統群が分岐した際にもともとクラスター外にあった*TRI101*と*TRI1*と呼ばれるトリコテセン生合成関連遺伝子が、クラスター内に移動したことが示されている¹⁹⁾。更に、内因説ではゲノム全体、染色体、あるいは遺伝子クラスターのレベルでの重複とその後の再編により新たな二次代謝産物の生合成遺伝子クラスターが生み出されることが考えられる。

一方、外因説では、既に他の生物が持つ遺伝子クラスターが水平転移で獲得されたとされる。生合成に関与する一連の遺伝子は、まとまった状態で同時に転移する機会が得られるため、水平転移は同調的遺伝子発現と並んで、関連遺伝子がクラスター化するもう一つのメリットと考えられている。*Fusarium solani* f. sp. *pisi*の17本の染色体のうち、エンドウへの病原性に関わる*Pea Pathogenicity (PEP)*遺伝子クラスターが座乗する第14染色体を含む3本の小型染色体は水平転移によって獲得されたと推測されている²⁰⁾。この場合を含めて水平転移は、転移後の状況証拠をもとに推測されるものがほとんどであるが、*Fusarium oxysporum*においては同種異菌株間ながらトマトへの病原性に関わる染色体の水平移動が、実験によって証明されている²¹⁾。Wisecover *et al* (2014)²²⁾は、これまでに得られている208個の糸状菌ゲノムの塩基配列情報から得た約25万個の代謝関連のタンパク質コード遺伝子について、遺伝子重複、クラスター、水平転移の観点でAgaricomycetes, Saccharomycotina, Pezizomycotina間の比較解析を行った結果、特に*Fusarium*を含むPezizomycotinaにおいて水平転移が多い特徴が見られたことを報告している。

フモニシンの生合成に関与する16個 (*FUM20*を

含める場合は17個)の遺伝子がクラスター (*FUM*クラスター)を形成していることは、まず*F. verticillioide*sにおいて明らかにされた^{23),24),25),26),27)}(図2)。これまで*Fusarium*菌では*F. graminearum*²⁸⁾を皮切りに、*F. solani* f. sp. *pisi*²⁰⁾、*F. verticillioide*s²¹⁾、*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*²¹⁾、*F. pseudograminearum*²⁹⁾、*F. fujikuroi*^{30),31)}で全ゲノム塩基配列が解読されている。これらの中では*F. fujikuroi*種複合体に属する*F. verticillioide*sと*F. fujikuroi*のみに*FUM*クラスターが存在しており、フモニシン産生が*F. fujikuroi*種複合体中の菌種のみに認められていることと一致している。*F. verticillioide*sと*F. fujikuroi*の*FUM*クラスターの遺伝子構成は基本的に同じである。一般に二次代謝産物の生合成遺伝子クラスターは染色体のテロメアの近くにあることで、遺伝子再編や進化が起こりやすく、そのため、産生力や産生物の多様性が生じやすくなっているとされているが、*F. verticillioide*sの*FUM*クラスターは第1染色体(約6.2Mbp)においてテロメアから少なくとも842 kb以上、*F. fujikuroi*の場合は第9染色体(約3.0Mbp)においてテロメアから少なくとも172 kb以上離れた位置に座乗している。*FUM*遺伝子はフモニシン産生条件下になると転写レベルが上昇することからクラスターを構成する遺伝子として認識されたものであるが、*F. verticillioide*sにおける個々の遺伝子破壊実験によればクラスターの端部に位置する*FUM17*、*FUM18*、*FUM19*遺伝子は破壊してもフモニシンの産生に影響はなかったとされている³⁾。*FUM19*はATP-binding cassette (ABC) multidrug resistant transporterと推定されている(図2)。一方、*FUM17*と*FUM18*はともにtomato longevity assurance factorに相同性が見られているため(図2)、個別の遺伝子破壊でフモニシン産生への影響がなかったのは互いの、あるいはクラスター外の遺伝子による機能補完による可能性も考えられる。しかし、両遺伝子を破壊した株でもフモニシン産生への影響は見られておらず、また、*FUM19*を含めてゲノム中にそれらに相同性を持つ遺伝子は見出されていない³⁾。*Aspergillus flavus*のアフラトキシン生合成遺伝子クラスターについては25個の遺伝子のうち8個の遺伝子が過去の重複で生じたと推定されている¹³⁾。また、*F. graminearum*のトリコテセン生合成遺伝子クラスター中の4個のモノオキシゲナーゼ遺伝子も重複で生じた可能性が考えられている。但し、*F. graminearum*のモノオキシゲナーゼ遺伝子は、クラスター中の他のモノオキシゲナーゼ遺伝子よりクラスター外のモノオキシゲナーゼ遺伝子に

図2 *Fusarium verticillioides* のフモニシン生合成遺伝子クラスターと各遺伝子の推定機能

*FUM21*²⁴⁾を除き、推定機能はDesjardins (2006)³⁾より。全ゲノムの遺伝子IDは、Broad Instituteの*F. verticillioides*の全ゲノム情報 (http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/fusarium_group/MultiHome.html) のもの。*FUM1*は単離された当初、*FUM5*と呼ばれていた。明確なORFが見出されていないのでここには示していないが、EST解析により*FUM12*と*FUM13*の間に機能未知の転写産物があることが分かっており²³⁾、*FUM20*とされている。

より類似性が高いことから、重複の起源はそれぞれ異なると予想されている¹⁹⁾。*FUM17*と*FUM18*には相同性があることから、これらも重複で生じた可能性が考えられる。但し、遺伝子重複が起きた場合、有性世代を経る過程ではrepeat induced point mutation (RIP) 機構により重複遺伝子のいずれか片方にトランジション変異が生じて遺伝子機能が停止する現象が知られている³²⁾。*F. fujikuroi*種複合体の生活環が必ずしも有性世代には依存していないことや、*F. graminearum*のようにRIPが起こる頻度が比較的低いことにより³³⁾、*FUM17*と*FUM18*の起源遺伝子が重複した際にRIPを逃れたのかもしれない。一方、*F. fujikuroi*の*FUM17*には、株によって一塩基欠失あるいは塩基置換に起因するナンセンス変異が見られる場合があるが^{31),34)}、少なくとも前者についてはフモニシンの産生が認められており³⁴⁾、*F. verticillioides*における

*FUM17*の破壊実験でフモニシン産生への影響がなかったことと矛盾はしていない。

Khalidi and Wolfe (2011)³⁵⁾は、*F. verticillioides*の*FUM*クラスター中の遺伝子及びその隣接領域の遺伝子について、*F. graminearum*、*Magnaporthe grisea*、*Aspergillus nidulans*のホモログを調べた結果をもとに、*F. verticillioides*の*FUM*クラスターは、1) もともとゲノムに散在していた遺伝子が転移で集合してできた可能性、2) *F. verticillioides*とは遺伝的に離れたSordariomycete中の菌から水平転移でもたらされた可能性を指摘している。*FUM*クラスターがどのようにして獲得されたのかについては未だ明確になってはいないが、*F. verticillioides*と*F. fujikuroi*でクラスター中の遺伝子構成は高度に保存されており、共通祖先において獲得された*FUM*クラスターが種分化を通じて保持されてきた、つまり垂直伝播してきたと予想される。しかし、

仮にその場合でも一度獲得された**FUM**クラスターがそのまま保持されてきたということではなさそうである。*F. verticillioide*sと*F. fujikuroi*はかつて*F. moniliforme*としてまとめられていたように遺伝的に近縁で、ゲノムにはシンテニーが見られる³¹⁾。もし単なる垂直伝播で*F. verticillioide*sと*F. fujikuroi*が**FUM**クラスターを保持してきたのであればそれらの菌種間で**FUM**クラスターのゲノム中の位置は同じはずである。しかし、前述したように*F. verticillioide*sでは第1染色体、*F. fujikuroi*では第9染色体に**FUM**クラスターが座乗しており、ゲノム中の位置が明らかに異なっている。Proctor *et al* (2013)³⁶⁾は*F. verticillioide*sとそれに近縁な9つの菌種について**FUM**クラスターとその周辺領域の遺伝子構造とそれら菌種間の系統進化を調べ、また種あるいは菌群間において一次代謝関連遺伝子より**FUM**遺伝子の方がdS (解析における純化選択の影響を避けるためアミノ酸の非同義置換は除いて、同義置換数を同義置換部位数で割った値) の値が高いという結果をもとに、**FUM**クラスターは*Fusarium*菌の進化過程で1) 何らかの生物から複数回水平転移してきた、あるいは2) 系統進化に先立つゲノム内重複とその後の消失が起きた (birth and death model) (図3) という二つのモデルを提示している。但し、*Fusarium anthophilum* などアメリカ群と*F. oxysporum* で例外的にフモニシン産生が認められている株はいずれもCタイプ (図1, 図3) のフモニシンを産生し、クラスターの隣接領域に共通した遺伝子があることから、仮にbirth and death modelが正しい場合でもこれらの間だけは水平転移が起きたと推定されている (図3)。

Aspergillusのフモニシン生合成遺伝子クラスター

フモニシンはまた*Fusarium*菌だけでなく、遺伝的に離れた*Aspergillus*属の一部 (*Aspergillus niger*の一部と*Aspergillus welwitschiae*の一部) によっても産生される。但し、*Aspergillus*属の場合、B₁タイプではなくB₂タイプが産生される。*A. niger*と*A. welwitschiae*の**FUM**クラスターは同じ構造で、*F. verticillioide*sに見られる16個 (**FUM20**含めた場合は17個) の遺伝子中、**FUM11**, **FUM12**, **FUM16**, **FUM17**, **FUM18**を除く11個の遺伝子からなる。それらの遺伝子の位置や方向は*F. verticillioide*sの**FUM**クラスターとは異なっており、また*F. verticillioide*sのクラスターには存在しないShort-chain dehydrogenase (*sdr1*) 遺伝子が含まれている。フモニシンB₁タイプは10位がOHであるのに対し、B₂タイプはHである (図1)。 *Aspergillus*属タイプの

FUMクラスターには10位の酸化酵素をコードしている**FUM12**が存在しないために^{37),38)}B₂タイプのフモニシンが産生されると考えられる。*A. niger*タイプの**FUM**クラスターの痕跡はフモニシンを産生しない*Aspergillus luchuensis*, *Aspergillus brasiliensis*, *Aspergillus tubingensis*のゲノムにも存在することから³⁹⁾、これらの共通祖先において**FUM**クラスターが成立、あるいは獲得されたと予想される。Khaldi and Wolfe (2011)³⁵⁾は、**FUM6**と**FUM15**の遺伝子系統樹をもとに、1) *Aspergillus*の**FUM**クラスターは、*Aspergillus*が属するEurotiomycetesではなく*Fusarium*が属するSordariomycetesに*Fusarium*との共通起源を持つこと、2) 水平転移で*Aspergillus*の祖先が**FUM**クラスターを獲得した後、クラスターの再編により*Fusarium*とは異なる構造になったと推測している。フモニシン産生が菌にとって何らかの役割を持ち続けたものでは種分化を通じて現在までクラスターが保持されているものの、役割がなくなった場合は、**FUM**クラスター自体がゲノムに存在していても機能が停止、あるいは**FUM**クラスターの全体や一部が欠失したと考えられる。当初**FUM**クラスターの欠失でフモニシンを産生しなくなっているバナナ分離株集団が*F. verticillioide*s中に見出されたが、分子遺伝学的に*F. verticillioide*sとは異なることが示され、現在は別種の*Fusarium musae*とされている^{14),40)}。

Fusarium fujikuroiのフモニシン産生集団と非産生集団

日本で古くから知られたイネばか苗病菌*F. fujikuroi*は*F. fujikuroi*種複合体中に見出された13の独立交配群の一つ (MP-C) に該当しており、アスパラガス根腐病などの原因となる*F. proliferatum* (MP-D) と分子系統樹上で隣接する、つまり姉妹群の関係にある。但し、*F. proliferatum*の場合は、種全体でフモニシン産生能が認められるのに対し、*F. fujikuroi*の場合は一部の株のみにフモニシン産生能が認められるとされていた^{41),42),43)}。*F. proliferatum*と*F. fujikuroi*は形態が酷似しているうえに、いずれもイネやトウモロコシなど共通した作物から分離されることで菌種の誤同定が頻繁に起こされている。そこで当初、筆者は*F. fujikuroi*の一部で見られたとするフモニシン産生能は*F. proliferatum*を*F. fujikuroi*と誤同定したことによる可能性を考え、正確に*F. fujikuroi*と同定した株に絞ってフモニシン産生能を調べてみることにした。*F. fujikuroi*と*F. proliferatum*はそれぞれ独立した交配群とされているものの、実験的な種間交配が成立し、

図3 *Fusarium* のフモニシン生合成遺伝子クラスターのbirth and death model

Proctor et al (2013)³⁶⁾により提唱されたモデルで、フモニシン生合成遺伝子 (*FUM*) クラスターは系統進化に先立ってゲノム内での重複により生じ、その後の消失で現在は一つだけが残ったとするもの。灰色は *Fusarium oxysporum* と *Fusarium fujikuroi* 種複合体の共通祖先からの進化系統樹。現在見られる *Fusarium* の *FUM* クラスターはいずれも構造が同じであるが、ホモロジーや隣接遺伝子の構造で大きく3つのタイプがある (それらは系統樹中で異なる種類の線で示した)。左上には系統樹中の線に対応させ種類の線の四角で *FUM* クラスターを囲い、その隣接遺伝子を白抜き矢印で、また産生されるフモニシンのタイプを示した。そこで示した5桁の数字はBroad Instituteの *Fusarium verticillioides* の全ゲノム情報 (http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/fusarium_group/MultiHome.html) の遺伝子IDの番号。但し、*ANK1* と *CPM1* は *F. verticillioides* の全ゲノム中にホモログがないため、遺伝子ID番号は示していない。染色体の番号は全ゲノム情報におけるもので、*F. verticillioides*²¹⁾ と *F. fujikuroi*³¹⁾ で共通。但し、*Fusarium anthophilum* などアメリカ系統群タイプの *FUM* クラスターについては両種における染色体は明確でないため示していない。また、本モデルでも *F. anthophilum* などアメリカ系統群と *F. oxysporum* (例外的にフモニシン産生が認められているO-1890株) 間だけは水平移行が起きたと推定されている。

限られた場所かもしれないが、フィールドに雑種が存在するとの報告もある⁴⁴⁾。しかし、データベースに登録されていた *Translation Elongation Factor 1α (TEF)* 遺伝子の塩基配列には、これらの種間に特徴的な違いが見られたことから、*TEF* を標的とした簡易的な菌種判定用PCR-RFLPを開発した⁴⁵⁾。それを利用して国内各地から分離した *F. fujikuroi* 種複合体集団中の *F. proliferatum* を除外し、*F. fujikuroi* と同定された株についてのフモニシン産生能を調べた。その結果、*F. fujikuroi* に見られるとされていたフモニシン産生能は *F. proliferatum* を誤同定

したことによるわけではなく、*F. fujikuroi* そのものにフモニシン産生能を持つものがあることが確認された。但し、全ての株でフモニシン産生能が認められたわけではなく、フモニシン産生が認められない株もあった。本稿では便宜上コーングリッツの培養でフモニシン産生が認められた株をフモニシン産生株、認められなかった株をフモニシン非産生株とする。それらフモニシン産生株とフモニシン非産生株が同一交配群に属することは交配試験でも確認された。*F. fujikuroi* におけるフモニシン非産生株は例外的な極く少数株というわけではなく、集団と

して存在する。 *F. fujikuroi* をフモニシン産生株集団と非産生株集団に分けて *TEF* の塩基配列を比較してみたところ、これらの集団間を識別できる一塩基多型が存在した⁴⁵⁾。更に、*AFLP* マーカーによる分子系統解析をしたところ、それらの集団は別のクレードを形成し、またフモニシン非産生集団は基本的にイネのみから分離されていたのに対し、フモニシン産生集団はトウモロコシなどイネ以外からも分離されていたとの分離源の違いも見出された。 *F. fujikuroi* のフモニシン非産生集団からも *FUM* クラスターが検出されているが、部分的な欠失が見られたり⁴⁶⁾、また、全体が保持されていても機能していないことが分かっている^{47),48),49)}。

おわりに

次世代シーケンサーが登場したことで、マイコキシンをはじめとする糸状菌の二次代謝産物の研究に大きな変化が生じている。これまでの研究では、まず何らかの二次代謝産物が得られ、その生合成経路や生合成に関わる遺伝子を解明するというのが主なながれであった。これに対し、次世代シーケンサーによる全ゲノム解析では、二次代謝産物に関連した遺伝子（クラスター）が検出されることで、得られていない未知の二次代謝産物の存在を予想することができる。未知の二次代謝産物ではなかったが、 *Fusarium* とは遺伝的に離れた *A. niger* がフモニシンを産生することは、 *A. niger* の全ゲノム情報中に *FUM* クラスターが検出されたことから分かった⁴⁸⁾。但し、例えば全ゲノム解析で二次代謝産物に関連した遺伝子（クラスター）が検出されたとしても、必ずしもそれらが発現する条件が分からない、あるいはポリケチド、ペプチド、テルペンなど主要構造が予測できるような場合でも実際の産生物の正確な構造まで知ることはできないなどの限界がある。全ゲノム解析だけでなく、更に組換えDNAや各種検出技術、メタボローム解析も利用することで、検出された遺伝子（クラスター）が産生する物質をとらえることができるかもしれない。一方、依然としてフモニシンをはじめとした各種二次代謝産物の菌にとっての役割の解明は容易ではない。 *F. fujikuroi* は未だ交配能が保持されてはいても種内が2つの遺伝的集団への分化が進んでいるようである。フモニシン産生能はその片方にのみ保持されていることから、これら集団間の生態の違いを詳しく調べれば、菌にとってのフモニシンの役割を知る手がかりが得られるかもしれない。

謝 辞

本稿には、岐阜大学生命科学総合研究支援センター須賀研究室学生諸氏および技術補佐員、岐阜大学応用生物科学部百町研究室、岐阜大学流域圏科学研究センター景山研究室など多くの方々の協力により得られた成果を含む。ここに記してお礼申し上げる。

引用文献

- 1) Bezuidenhout, S.C., Gelderblom, W.C.A., Gorst-Allman, C.P., Horak, R.M., Marasas, W.F.O., Spiteller, G., Vlegaar, R.: Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J Chem Soc Chem Commun*, 743-745 (1988)
- 2) Gelderblom, W.C.A., Marasas, W.F.O., Horak, R.M., Vlegaar, R., Kriek, N.P.J.: Fumonisins - novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol*, **54**, 1806-1811 (1988)
- 3) Desjardins, A.E.: "*Fusarium* mycotoxins. chemistry, genetics, and biology" St Paul, MN, USA: American Phytopathology Society, pp.79-108 (2006)
- 4) Laurent, D., Platzer, N., Kohler, F., Sauviat, M.P., Pellegrin, F.: Macrofusine et micromoniline: Deux nouvelles mycotoxines isolées de maïs infesté par *Fusarium moniliforme* Sheld. *Microbiol Alim Nutr*, **7**, 9-16 (1989)
- 5) Wollenweber, H.W., Reinking, O.A.: Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung, (1935), Paul Parey, Berlin
- 6) Booth, C.: The genus *Fusarium*, (1971), Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey
- 7) Nirenberg, H.I., O'Donnell, K.: New *Fusarium* species and combination within the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, **90**, 434-458 (1998)
- 8) O'Donnell, K., Cigelnik, E., Nirenberg, H.I.: Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, **90**, 465-493 (1998)
- 9) Seifert, K.A., Aoki, T., Baayen, R.P., Brayford, D., Burgess, L.W., Chulze, S., Gams, W., Geiser, D., de Gruyter, J., Leslie, J.F., Logrieco, A., Marasas, W.F.O., Nirenberg, H.I., O'Donnell, K., Rheeder, J., Samuels, G.J., Summerell, B.A., Thrane, U., Waalwijk, C.: Mycological Research News: The name *Fusarium moniliforme* should no longer be used. *Mycol Res*, **107**, 643-644 (2003)
- 10) Marasas, W.F.O.: "Fumonisins in food" (eds. Jackson, L.S., DeVries, J.W., Bullerman L.B.), pp.1-17 (1996), Plenum Press, New York

- 11) Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O., Vismer, H.F.: Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl Environ Microbiol*, **68**, 2101-2105 (2002)
- 12) O'Donnell, K., Rooney, A.P., Proctor, R.H., Brown, D.W., McCormick, S.P., Ward, T.J., Frandsen, R.J.N., Lysoe, E., Rehner, S.A., Aoki, T., Robert, V.A.R.G., Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Kang, S. and Geiser, D.M.: Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Genet Biol*, **52**, 20-31 (2013)
- 13) Carbone, I., Ramirez-Prado, J.H., Jakobek, J.L., Horn, B.W.: Gene duplication, modularity and adaptation in the evolution of the aflatoxin gene cluster. *BMC Evol Biol*, **7**, 111 (2007)
- 14) Glenn, A.E., Zitomer, N.C., Zimeri, A.M., Williams, L.D., Riley, R.T., Proctor, R.H.: Transformation-mediated complementation of a *FUM* gene cluster deletion in *Fusarium verticillioides* restores both fumonisin production and pathogenicity on maize seedlings. *Mol Plant Microbe Interact*, **21**, 87-97 (2008)
- 15) Desjardins, A.E., Munkvold, G.P., Plattner, R.D., Proctor, R.H.: *FUM1*-a gene required for fumonisin biosynthesis but not for maize ear rot and ear infection by *Gibberella moniliformis* in field tests. *Mol Plant Microbe Interact*, **15**, 1157-1164 (2002)
- 16) Keyser, Z., Vismer, H.F., Klaasen, J.A., Snijman, P.W., Marasas, W.F.O.: The antifungal effect of fumonisin B1 on *Fusarium* and other fungal species. *S Afr J Sci*, **95**, 455-458 (1999)
- 17) Keller, N.P., Turner, G., Bennett, J.W.: Fungal secondary metabolism from biochemistry to genomics. *Nat Rev Microbiol*, **3**, 937-947 (2005)
- 18) Chiou, C.-H., Miller, M., Wilson, D.L., Trail, F., Linz, J.E.: Chromosomal location plays a role in regulation of aflatoxin gene expression in *Aspergillus parasiticus*. *Appl Environ Microbiol*, **68**, 306-315 (2002)
- 19) Proctor, R.H., McCormick, S.P., Alexander, N.J., Desjardins, A.E.: Evidence that a secondary metabolic biosynthetic gene cluster has grown by gene relocation during evolution of the filamentous fungus *Fusarium*. *Mol Microbiol*, **74**, 1128-1142 (2009)
- 20) Coleman, J.J., Rounsley, S.D., Rodriguez-Carres, M., Kuo, A., Wasmann, C.C., Grimwood, J., Schmutz, J., Taga, M., White, G.J., Zhou, S., Schwartz, D.C., Freitag, M., Ma, L.J., Danchin, E.G., Henrissat, B., Coutinho, P.M., Nelson, D.R., Straney, D., Napoli, C.A., Barker, B.M., Gribskov, M., Rep, M., Kroken, S., Molnár, I., Rensing, C., Kennell, J.C., Zamora, J., Farman, M.L., Selker, E.U., Salamov, A., Shapiro, H., Pangilinan, J., Lindquist, E., Lamers, C., Grigoriev, I.V., Geiser, D.M., Covert, S.F., Temporini, E., Vanetten, H.D.: The genome of *Nectria haematococca*: contribution of supernumerary chromosomes to gene expansion. *PLoS Genet*, **5**, e1000618 (2009)
- 21) Ma, L.J., van der Does, H.C., Borkovich, K.A., Coleman, J.J., Daboussi, M.J., Di Pietro, A., Dufresne, M., Freitag, M., Grabherr, M., Henrissat, B., Houterman, P.M., Kang, S., Shim, W.B., Woloshuk, C., Xie, X., Xu, J.R., Antoniw, J., Baker, S.E., Bluhm, B.H., Breakspear, A., Brown, D.W., Butchko, R.A., Chapman, S., Coulson, R., Coutinho, P.M., Danchin, E.G., Diener, A., Gale, L.R., Gardiner, D.M., Goff, S., Hammond-Kosack, K.E., Hilburn, K., Hua-Van, A., Jonkers, W., Kazan, K., Kodira, C.D., Koehrsen, M., Kumar, L., Lee, Y.H., Li, L., Manners, J.M., Miranda-Saavedra, D., Mukherjee, M., Park, G., Park, J., Park, S.Y., Proctor, R.H., Regev, A., Ruiz-Roldan, M.C., Sain, D., Sakthikumar, S., Sykes, S., Schwartz, D.C., Turgeon, B.G., Wapinski, I., Yoder, O., Young, S., Zeng, Q., Zhou, S., Galagan, J., Cuomo, C.A., Kistler, H.C., Rep, M.: Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. *Nature*, **464**, 367-373 (2010)
- 22) Wisecaver, J.H., Slot, J.C., Rokas, A.: The evolution of fungal metabolic pathways. *PLoS Genet*, **10**, e1004816 (2014)
- 23) Brown, D.W., Cheung, F., Proctor, R.H., Butchko, R.A., Zheng, L., Lee, Y., Utterback, T., Smith, S., Feldblyum, T., Glenn, A.E., Plattner, R.D., Kendra, D.F., Town, C.D., Whitelaw, C.A.: Comparative analysis of 87,000 expressed sequence tags from the fumonisin-producing fungus *Fusarium verticillioides*. *Fungal Genet Biol*, **42**, 848-861 (2005)
- 24) Brown, D.W., Butchko, R.A.E., Busman, M., Proctor, R.H.: The *Fusarium verticillioides* *FUM* gene cluster encodes a Zn(II)₂Cys₆ protein that affects *FUM* gene expression and fumonisin production. *Eukaryot Cell*, **6**, 1210-1218 (2007)
- 25) Proctor, R.H., Desjardins, A.E., Plattner, R.D., Hohn, T.M.: A polyketide synthase gene required for biosynthesis of fumonisin mycotoxins in *Gibberella fujikuroi* mating population A. *Fungal Genet Biol*, **27**, 100-112 (1999)
- 26) Proctor, R.H., Brown, D.W., Plattner, R.D., Desjardins, A.E.: Co-expression of 15 contiguous gene delineates a fumonisin biosynthetic gene cluster in *Gibberella moniliformis*. *Fungal Genet Biol*, **38**, 237-249 (2003)
- 27) Seo, J.-A., Proctor, R.H., Plattner, R.D.: Characterization of four clustered and coregulated genes associated with fumonisin biosynthesis in *Fusarium verticillioides*. *Fungal Genet Biol*, **34**, 155-165 (2001)
- 28) Cuomo, C.A., Guldener, U., Xu, J.R., Trail, F., Turgeon, B.G., Di Pietro, A., Walton, J.D., Ma, L.J.,

- Baker, S.E., Rep, M., Adam, G., Antoniw, J., Baldwin, T., Calvo, S., Chang, Y.L., DeCaprio, D., Gale, L.R., Gnerre, S., Goswami, R.S., Hammond-Kosack, K., Harris, L.J., Hilburn, K., Kennell, J.C., Kroken, S., Magnuson, J.K., Mannhaupt, G., Mauceli, E., Mewes, H.W., Mitterbauer, R., Muehlbauer, G., Munsterkotter, M., Nelson, D., O'Donnell, K., Ouellet, T., Qi, W., Quesneville, H., Roncero, M.I.G., Seong, K.Y., Tetko, I.V., Urban, M., Waalwijk, C., Ward, T.J., Yao, J., Birren, B.W., Kistler, H.C.: The *Fusarium graminearum* genome reveals a link between localized polymorphism and pathogen specialization. *Science*, **317**, 1400-1402 (2007)
- 29) Gardiner, D.M., McDonald, M.C., Covarelli, L., Solomon, P.S., Rusu, A.G., Marshall, M., Kazan, K., Chakraborty, S., McDonald, B.A., Manners, J.M.: Comparative pathogenomics reveals horizontally acquired novel virulence genes in fungi infecting cereal hosts. *PLoS Pathog*, **8**, e1002952 (2012)
- 30) Jeong, H., Lee S, Choi, G.J., Lee, T., Yun, S.-H.: Draft genome sequence of *Fusarium fujikuroi* B14, the causal agent of the bakanae disease of rice. *Genome Announc*, **1**, e00035-00013 (2013)
- 31) Wiemann, P., Sieber, C.M.K., von Bargen, K.W., Studt, L., Niehaus, E.-M., Espino, J.J., Huß, K., Michielse, C.B., Albermann, S., Wagner, D., Bergner, S.V., Connolly, L.R., Fischer, A., Reuter, G., Kleigrew, K., Bald, T., Wingfield, B.D., Ophir, R., Freeman, S., Hippler, M., Smith, K.M., Brown, D.W., Proctor, R.H., Münsterkötter, M., Freitag, M., Humpf, H.-U., Güldener, U., Tudzynski, B.: Deciphering the cryptic genome: genome-wide analyses of the rice pathogen *Fusarium fujikuroi* reveal complex regulation of secondary metabolism and novel metabolites. *PLoS Pathog*, **9**, e1003475 (2013)
- 32) Selker, E.U., Cambareri, E.B., Jensen, B.C., Haack, K.R.: Rearrangement of duplicated DNA in specialized cells of *Neurospora*. *Cell*, **51**, 741-752 (1987)
- 33) Pomraning, K.R., Connolly, L.R., Whalen, J.P., Smith, K.M., Freitag, M.: "*Fusarium*: genomics, molecular and cellular biology", (eds. Brawn, D.W., Proctor, R.H.), pp.93-109 (2013), Caister Academic Press, Norfolk, UK
- 34) 北嶋 美葉, スコット 暁子, 久城 真代, 中島 隆, 景山 幸二, 百町 満朗, 須賀 晴久: *Fusarium fujikuroi* のフモニシン産生遺伝子クラスターの構造解明. 日本マイコトキシン学会第69回学術講演会要旨集, 21 (2011)
- 35) Khaldi, N., Wolfe, K.H.: Evolutionary origins of the fumonisin secondary metabolite gene cluster in *Fusarium verticillioides* and *Aspergillus niger*. *Int J Evol Biol*, **2011**, 1-7 (2011)
- 36) Proctor, R., Van Hove, F., Susca, A., Stea, G., Busman, M., van der Lee, T., Waalwijk, C., Moretti, A., Ward, T.J.: Birth, death and horizontal transfer of the fumonisin biosynthetic gene cluster during the evolutionary diversification of *Fusarium*. *Mol Microbiol*, **90**, 290-306 (2013)
- 37) Baker, S.E.: *Aspergillus niger* genomics: past, present and into the future. *Med Mycol*, **44**, 17-21 (2006)
- 38) Pel, H.J., de Winde, J.H., Archer, D.B., Dyer, P.S., Hofmann, G., Schaap, P.J., Turner, G., de Vries, R.P., Albang, R., Albermann, K., Andersen, M.R., Bendtsen, J.D., Benen, J.A., van den Berg, M., Breestraat, S., Caddick, M.X., Contreras, R., Cornell, M., Coutinho, P.M., Danchin, E.G., Debets, A.J., Dekker, P., van Dijk, P.W., van Dijk, A., Dijkhuizen, L., Driessen, A.J., d'Enfert, C., Geyens, S., Goosen, C., Groot, G.S., de Groot, P.W., Guillemette, T., Henrissat, B., Herweijer, M., van den Hombergh, J.P., van den Hondel, C.A., van der Heijden, R.T., van der Kaaij, R.M., Klis, F.M., Kools, H.J., Kubicek, C.P., van Kuyk, P.A., Lauber, J., Lu, X., van der Maarel, M.J., Meulenberg, R., Menke, H., Mortimer, M.A., Nielsen, J., Oliver, S.G., Olsthoorn, M., Pal, K., van Peij, N.N., Ram, A.F., Rinas, U., Roubos, J.A., Sagt, C.M., Schmoll, M., Sun, J., Ussery, D., Varga, J., Vervecken, W., van de Vondervoort, P.J., Wedler, H., Wosten, H.A., Zeng, A.P., van Ooyen, A.J., Visser, J., Stam, H.: Genome sequencing and analysis of the versatile cell factory *Aspergillus niger* CBS 513.88. *Nat Biotechnol*, **25**, 221-231 (2007)
- 39) Susca, A., Proctor, R.H., Butchko, R.A.E., Haidukowski, M., Stea, G., Logrieco, A., Moretti, A.: Variation in the fumonisin biosynthetic gene cluster in fumonisin-producing and nonproducing black aspergilli. *Fungal Genet Biol*, **73**, 39-52 (2014)
- 40) Van Hove F., Waalwijk C., Logrieco A., Munaut F., Moretti, A.: *Gibberella musae* (*Fusarium musae*) sp. nov., a recently discovered species from banana is sister to *F. verticillioides*. *Mycologia*, **103**, 570-585 (2011)
- 41) Desjardins, A.E., Plattner, R.D., Nelson, P.E.: Production of fumonisin B1 and moniliformin by *Gibberella fujikuroi* from rice from various geographic areas. *Appl Environ Microbiol*, **63**, 1838-1842 (1997)
- 42) Desjardins, A.E., Manandhar, H.K., Plattner, R.D., Manandhar, G.G., Poling, S.M., Maragos, C.M.: *Fusarium* species from Nepalese rice and production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. *Appl Environ Microbiol*, **66**, 1020-1025 (2000)
- 43) Wulff, E.G., Sørensen, J.L., Lübeck, M., Nielsen, K.F., Thrane, U., Torp, J.: *Fusarium* spp. associated with rice Bakanae: ecology, genetic diversity,

- pathogenicity and toxigenicity. *Environ Microbiol*, **12**, 649-657 (2010)
- 44) Leslie, J., Zeller, K., Wohler, M., Summerell, B.: Interfertility of two mating populations in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Eur J Plant Pathol*, **110**, 611-618 (2004)
- 45) Suga, H., Kitajima, M., Nagumo, R., Tsukiboshi, T., Uegaki, R., Nakajima, T., Kushiro, M., Nakagawa, H., Shimizu, M., Kageyama, K., Hyakumachi, M.: A single nucleotide polymorphism in the translation elongation factor 1 α gene correlates with the ability to produce fumonisin in Japanese *Fusarium fujikuroi*. *Fungal Biol*, **118**, 402-412 (2014)
- 46) 須賀 晴久, スコット 暁子, 景山 幸二, 北嶋 美葉, 清水 将文, 百町 満朗: *Fusarium fujikuroi* の G 系統株に見出だされたフモニシン産生遺伝子クラスターの部分欠失と *FUM* 遺伝子の発現異常. 日本マイコトキシン学会第73回学術講演会要旨集, 19 (2013)
- 47) 山口 竜央, スコット 暁子, 景山 幸二, 百町 満朗, 須賀 晴久: *Fusarium fujikuroi* に見られるフモニシン非産生株のフモニシン産生遺伝子クラスター領域の構造. 日本マイコトキシン学会第72回学術講演会要旨集, 35 (2013)
- 48) 須賀 晴久, スコット 暁子, 小林 弘典, 景山 幸二, 清水 将文, 百町 満朗: 遺伝子導入による *Fusarium fujikuroi* G 系統株のフモニシン産生能の回復. 日本マイコトキシン学会第74回学術講演会要旨集, 29 (2014)
- 49) 須賀 晴久, 船坂 美佳, 景山 幸二, 清水 将文, 百町 満朗: *Fusarium fujikuroi* のフモニシン産生能喪失に関わる *FUM21* 遺伝子中の変異. 日本マイコトキシン学会第76回学術講演会要旨集, 36-37 (2015)

Evolution of a fumonisin biosynthetic gene cluster in *Fusarium fujikuroi* species complex

Haruhisa Suga¹

¹Life Science Research Center, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan

Fumonisin, a mycotoxin produced by some members of *Fusarium fujikuroi* species complex, causes swine pulmonary edema and equine leukoencephalomalacia. Clustering of the genes involving fumonisin biosynthesis in the genome have been revealed. The *FUM* cluster poses many questions in regard to the process obtained by *Fusarium* and its evolution. In this mini review, fumonisin characteristics are described and the role of fumonisin for the producing fungi and the evolution of the *FUM* cluster were discussed.

Keywords: ear rot of maize; fumonisins; fungi; *Fusarium*; genome evolution; rice bakanae disease; secondary metabolites