

Title	生育環境トレースと系統地理解析に基づくシネンシストウチュウカソウの産地識別
Sub Title	Tracing the geographical origin of <i>Ophiocordyceps sinensis</i> by using phylogeographic insights and stable isotope analyses
Author	糟谷, 大河(Kasuya, Taiga)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>シネンシストウチュウカソウ (狭義の「冬虫夏草」; <i>Ophiocordyceps sinensis</i>) は, コウモリガ類の幼虫に寄生する, 子囊菌門ボタタケ目オフィオコルジケプス科に属する昆虫寄生菌である。宿主であるコウモリガ類の幼虫と, 菌糸で構成される子実体からなる複合体が, 中薬材 (漢方薬) の一つとして用いられている。中国のチベット自治区, 青海省, 四川省や雲南省などの, 標高3,500~5,000 m級の高山帯がその代表的産地である。従来から天然品 (野生) のシネンシストウチュウカソウは希少性が高く, 市場では高値で取引されている。このように, シネンシストウチュウカソウは天然品の希少性や経済的価値が高く, 流過程での産地偽装が多発している。また, 人工培養により生産された菌糸体由来の製品も広く流通しているが, 人工培養品は菌株の活性に疑問がもたれている。さらに, 天然品においても産地や生育環境が異なることで薬効成分に違いが生じることが示されているが, その要因は不明である。これらのことから, 天然品と人工培養品の識別, さらに天然品の産地識別は, シネンシストウチュウカソウの品質管理を進める上で重要な課題である。そこで本研究では, 複数の科学的手法を組み合わせたシネンシストウチュウカソウの産地識別方法を確立することを目的とした。</p> <p>中国のチベット自治区および青海省より, シネンシストウチュウカソウの試料を計5点収集した。さらに, 日本各地よりオフィオコルジケプス科に属する昆虫寄生菌類の試料46点を収集し, これら計51試料について, DNA抽出, PCRによる核rRNA遺伝子のITS領域と大サブユニット (LSU) の増幅, およびシーケンシングを行った。以上により得られた塩基配列データおよびNCBI Gen Bankより取得した, シネンシストウチュウカソウを含む昆虫寄生菌類の塩基配列データを統合してデータセットを作成し, ITS領域とLSUそれぞれについて, 最節約法および最尤法により系統解析を行った。その結果, 今回新たに収集した5点のシネンシストウチュウカソウの真正性が系統的に示された。また, 系統解析の結果, チベット自治区と青海省産のシネンシストウチュウカソウの試料の一部において, 産地間での系統的な差異が認められた。あわせて, 生育環境情報として化学指紋が残り, これまでにも様々な農林水産物の産地識別に用いられている安定同位体比の分析を行った。今回収集した5点のシネンシストウチュウカソウの試料について, 主に昆虫の組織からなる宿主部分と, 菌類の菌糸組織からなる子実体部分に分割し, それぞれの部分ごとに, 安定同位体比質量分析計を用いて, 水素, 炭素, 窒素, 酸素, 硫黄の安定同位体比を分析した。その結果, チベット自治区産と青海省産のシネンシストウチュウカソウの宿主部分において, 水素および酸素の安定同位体比に有意差が認められ, これらが産地識別のための指標として適用できる可能性が示唆された。以上のように, 系統解析と安定同位体比分析を複合することで, シネンシストウチュウカソウの産地識別手法の確立に向けた基礎的知見を得ることができた。</p> <p><i>Ophiocordyceps sinensis</i> is an insect parasitic fungus belonging to the order Hypocreales, family Ophiocordycipitaceae. <i>Ophiocordyceps sinensis</i> parasitizes larvae of ghost moths (family Hepialidae, Lepidoptera). A complex consisting of a host larva of the ghost moths and a fruiting body composed of hyphae of <i>O. sinensis</i> is used as one of the traditional Chinese medicine materials. Typical production areas of <i>O. sinensis</i> are alpine zones with high altitude as 3,500 to 5,000 m above sea level, such as Tibet Autonomous Region, Qinghai Province, Sichuan Province and Yunnan Province in China. Traditionally, natural (wild) products of <i>O. sinensis</i> is highly rare and is traded at high prices in the Chinese medicinal market. In this way, <i>O. sinensis</i> has high scarcity and economic value as a natural product, and the production area is frequently disguised in the distribution process. In addition, medicinal products derived from mycelium produced by artificial culture are also widely distributed, but the activity of the strains of artificially cultured products of <i>O. sinensis</i> is questionable. Furthermore, it has been shown that the medicinal properties of natural products of <i>O. sinensis</i> differ depending on the production area and growing environment, but these causes are unknown. For these reasons, identification of natural products and artificially cultured products, as well as identification of the geographical origin of natural products, is an important issue in advancing quality control of <i>O. sinensis</i>. Therefore, the purpose of this study was to establish a method for identifying the geographical origin of <i>O. sinensis</i>, which is a combination of multiple scientific methods.</p> <p>A total of 5 samples of <i>O. sinensis</i> were collected from the Tibet Autonomous Region and Qinghai</p>

	Province of China. In addition, 46 samples of insect parasitic fungi belonging to the family Ophiocordycipitaceae were collected from various parts of Japan, and for a total of 51 samples, sequences of the ITS region and large subunit (LSU) of the nuclear rRNA gene were obtained after DNA extraction and PCR amplification. Datasets were created by integrating the nucleotide sequence data obtained above and the additional sequences of insect parasitic fungi including <i>O. sinensis</i> obtained from NCBI GenBank, and the maximum parsimony and maximum likelihood methods were used for each of the ITS region and LSU for phylogeographic analyses. As a result, the authenticity of the five newly collected samples of <i>O. sinensis</i> was phylogenetically shown. In addition, as a result of phylogenetic analyses, genetic differences were observed among the geographical origin in some samples of <i>O. sinensis</i> such as between Tibet Autonomous Region and Qinghai Province. At the same time, stable isotope ratios of <i>O. sinensis</i> samples were analyzed. The five samples of <i>O. sinensis</i> collected in the present study were divided into a host part consisting mainly of insect tissue and a fruiting body part consisting mainly of fungal hyphal tissue. The stable isotope ratios of hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, and sulfur were analyzed using a stable isotope ratio mass spectrometer for each part. As a result, significant differences were found in the stable isotope ratios of hydrogen and oxygen between the host parts of <i>O. sinensis</i> samples from Tibet Autonomous Region and Qinghai Province, suggesting that these may be applicable as indicators for identifying the geographical origin. As described above, by combining phylogenetic insights and stable isotope ratio analyses, we were able to obtain basic knowledge for establishing a method for identification of the geographical origin of <i>O. sinensis</i> .
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000008-20200183

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	経済学部	職名	准教授	補助額	1,000 (特A)千円
	氏名	糟谷 大河	氏名 (英語)	Taiga Kasuya		
研究課題 (日本語)						
生育環境トレースと系統地理解析に基づくシネンシストウチュウカソウの産地識別						
研究課題 (英訳)						
Tracing the geographical origin of <i>Ophiocordyceps sinensis</i> by using phylogeographic insights and stable isotope analyses						
1. 研究成果実績の概要						
<p>シネンシストウチュウカソウ(狭義の「冬虫夏草」; <i>Ophiocordyceps sinensis</i>)は、コウモリガ類の幼虫に寄生する、子囊菌門ボタンタケ目オフィオコルジケブス科に属する昆虫寄生菌である。宿主であるコウモリガ類の幼虫と、菌糸で構成される子実体からなる複合体が、中薬材(漢方薬)の一つとして用いられている。中国のチベット自治区、青海省、四川省や雲南省などの、標高 3,500~5,000 m 級の高山帯がその代表的産地である。従来から天然品(野生)のシネンシストウチュウカソウは希少性が高く、市場では高値で取引されている。このように、シネンシストウチュウカソウは天然品の希少性や経済的価値が高く、流通過程での産地偽装が多発している。また、人工培養により生産された菌糸体由来の製品も広く流通しているが、人工培養品は菌株の活性に疑問がもたれている。さらに、天然品においても産地や生育環境が異なることで薬効成分に違いが生じることが示されているが、その要因は不明である。これらのことから、天然品と人工培養品の識別、さらに天然品の産地識別は、シネンシストウチュウカソウの品質管理を進める上で重要な課題である。そこで本研究では、複数の科学的手法を組み合わせたシネンシストウチュウカソウの産地識別方法を確立することを目的とした。</p> <p>中国のチベット自治区および青海省より、シネンシストウチュウカソウの試料を計 5 点収集した。さらに、日本各地よりオフィオコルジケブス科に属する昆虫寄生菌類の試料 46 点を収集し、これら計 51 試料について、DNA 抽出、PCR による核 rRNA 遺伝子の ITS 領域と大サブユニット(LSU)の増幅、およびシーケンシングを行った。以上により得られた塩基配列データおよび NCBI GenBank より取得した、シネンシストウチュウカソウを含む昆虫寄生菌類の塩基配列データを統合してデータセットを作成し、ITS 領域と LSU それぞれについて、最節約法および最尤法により系統解析を行った。その結果、今回新たに収集した 5 点のシネンシストウチュウカソウの真正性が系統的に示された。また、系統解析の結果、チベット自治区と青海省産のシネンシストウチュウカソウの試料の一部において、産地間での系統的な差異が認められた。あわせて、生育環境情報として化学指紋が残り、これまでも様々な農林水産物の産地識別に用いられている安定同位体比の分析を行った。今回収集した 5 点のシネンシストウチュウカソウの試料について、主に昆虫の組織からなる宿主部分と、菌類の菌糸組織からなる子実体部分に分割し、それぞれの部分ごとに、安定同位体比質量分析計を用いて、水素、炭素、窒素、酸素、硫黄の安定同位体比を分析した。その結果、チベット自治区産と青海省産のシネンシストウチュウカソウの宿主部分において、水素および酸素の安定同位体比に有意差が認められ、これらが産地識別のための指標として適用できる可能性が示唆された。以上のように、系統解析と安定同位体比分析を複合することで、シネンシストウチュウカソウの産地識別手法の確立に向けた基礎的知見を得ることができた。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p><i>Ophiocordyceps sinensis</i> is an insect parasitic fungus belonging to the order Hypocreales, family Ophiocordycipitaceae. <i>Ophiocordyceps sinensis</i> parasitizes larvae of ghost moths (family Hepialidae, Lepidoptera). A complex consisting of a host larva of the ghost moths and a fruiting body composed of hyphae of <i>O. sinensis</i> is used as one of the traditional Chinese medicine materials. Typical production areas of <i>O. sinensis</i> are alpine zones with high altitude as 3,500 to 5,000 m above sea level, such as Tibet Autonomous Region, Qinghai Province, Sichuan Province and Yunnan Province in China. Traditionally, natural (wild) products of <i>O. sinensis</i> is highly rare and is traded at high prices in the Chinese medicinal market. In this way, <i>O. sinensis</i> has high scarcity and economic value as a natural product, and the production area is frequently disguised in the distribution process. In addition, medicinal products derived from mycelium produced by artificial culture are also widely distributed, but the activity of the strains of artificially cultured products of <i>O. sinensis</i> is questionable. Furthermore, it has been shown that the medicinal properties of natural products of <i>O. sinensis</i> differ depending on the production area and growing environment, but these causes are unknown. For these reasons, identification of natural products and artificially cultured products, as well as identification of the geographical origin of natural products, is an important issue in advancing quality control of <i>O. sinensis</i>. Therefore, the purpose of this study was to establish a method for identifying the geographical origin of <i>O. sinensis</i>, which is a combination of multiple scientific methods.</p> <p>A total of 5 samples of <i>O. sinensis</i> were collected from the Tibet Autonomous Region and Qinghai Province of China. In addition, 46 samples of insect parasitic fungi belonging to the family Ophiocordycipitaceae were collected from various parts of Japan, and for a total of 51 samples, sequences of the ITS region and large subunit (LSU) of the nuclear rRNA gene were obtained after DNA extraction and PCR amplification. Datasets were created by integrating the nucleotide sequence data obtained above and the additional sequences of insect parasitic fungi including <i>O. sinensis</i> obtained from NCBI GenBank, and the maximum parsimony and maximum likelihood methods were used for each of the ITS region and LSU for phylogeographic analyses. As a result, the authenticity of the five newly collected samples of <i>O. sinensis</i> was phylogenetically shown. In addition, as a result of phylogenetic analyses, genetic differences were observed among the geographical origin in some samples of <i>O. sinensis</i> such as between Tibet Autonomous Region and Qinghai Province. At the same time, stable isotope ratios of <i>O. sinensis</i> samples were analyzed. The five samples of <i>O. sinensis</i> collected in the present study were divided into a host part consisting mainly of insect tissue and a fruiting body part consisting mainly of fungal hyphal tissue. The stable isotope ratios of hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, and sulfur were analyzed using a stable isotope ratio mass spectrometer for each part. As a result, significant differences were found in the stable isotope ratios of hydrogen and oxygen between the host parts of <i>O. sinensis</i> samples from Tibet Autonomous Region and Qinghai Province, suggesting that these may be applicable as indicators for identifying the geographical origin. As described above, by combining phylogenetic insights and stable isotope ratio analyses, we were able to obtain basic knowledge for establishing a method for identification of the geographical origin of <i>O. sinensis</i>.</p>						

3. 本研究課題に関する発表

発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)
Huili Li, Yang Tian, Nelson Menolli Jr, Lei Ye, Samantha C Karunarathna, Jesus Perez-Moreno, Mohammad Mahmudur Rahman, Md Harunur Rashid, Pheng Phengsintham, Leela Rizal, Taiga Kasuya, Young Woon Lim, Arun Kumar Dutta, Abdul Nasir Khalid, Le Thanh Huyen, Marilen Parungao Balolong, Gautam Baruah, Sumedha Madawala, Naritsada Thongklang, Kevin D Hyde, Paul M Kirk, Jianchu Xu, Jun Sheng, Eric Boa, Peter E Mortimer	Reviewing the world's edible mushroom species: A new evidence-based classification system	Comprehensive reviews in food science and food safety	2021年3月
Yoshito Shimono, Taiga Kasuya, Kentaro Hosaka	<i>Russula ryukokuensis</i> sp. nov., an Outstanding Species of the Genus <i>Russula</i> (Russulaceae) Having Minute Basidiomata from Japan	Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series B (Botany)	2021年2月
Taiga Kasuya, Makoto Kakishima, Kentaro Hosaka	<i>Gymnosporangium raphiolepidis</i> comb. nov. (Pucciniales) for <i>Aecidium raphiolepidis</i> inferred from phylogenetic evidence	Phytotaxa	2020年9月
糟谷 大河, 横瀬 萌絵	白色の子実体を形成する日本産の致死性テングタケ属菌の多様性	第4回日本ワンヘルスサイエンス学会大会	2020年9月