

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 石 一智

糸状菌の分生子は栄養源の枯渇などが引き金となり気中の分生子柄 (Stalk、Vesicle、Phialide) の先端に無性的に形成される細胞である。*Aspergillus nidulans* など多くの *Aspergillus* 属糸状菌においては基底菌糸から Vesicle までつながる 1 つの細胞は多核であるが、Phialide から分生子は単核であることが知られている。一方、*A. oryzae* では Phialide から分生子まで一部は単核であるが、多くは多核の状態を維持する。多核分生子の存在は古くから観察されていたものの、その形成機構の詳細は現在に至るまでほとんど理解されていない。本論文は麹菌 *A. oryzae* における多核分生子の形成機構とその存在意義について論じたものであり、4 章よりなる。

第 1 章では *A. oryzae* の多核分生子形成時における核運搬過程の追跡を試みた。まず *A. nidulans* をモデルとして観察手法の確立を試みたところ、*A. nidulans* では、Stalk、Vesicle、Phialide、分生子の順に核が 1 つずつ運搬されることで単核の分生子が形成されることがわかった。次に同様の方法により *A. oryzae* における多核分生子形成機構を調べた。その結果、*A. nidulans* とは異なり、*A. oryzae* においては複数個の核が Vesicle と Phialide 間で移動することがわかった。さらに、Phialide と分生子間でも複数個の核の移動が観察された。また、分生子内で核分裂は観察されなかった。したがって、*A. oryzae* の多核分生子は分生子内での核分裂により形成されるのではなく、Phialide から分生子間において複数個の核が運搬されることにより形成されることがわかった。

第 2 章では多核分生子の存在意義についての解析を行った。*A. oryzae* の分生子発芽時における核動態を経時的に調べたところ、多核分生子は単核分生子よりも早く発芽することがわかった。さらに核数分布の異なる 5 種の *A. oryzae* 株由来の分生子に紫外線照射し、その生存率を測定したところ、分生子内の核数が多い株ほど生存率が高く、低い株ほど生存率が低かった。また、一つの株由来の分生子集団から単核が多く濃縮された分生子集団とそうでない分生子集団を分離し、それらにおける紫外線照射後の生存率を調べた場合でも、単核が濃縮された分生子集団は濃縮されていない集団よりも生存率が低いことがわかった。以上より、多核分生子は醸造産業で使用される *A. oryzae* の分生子保存中の遺伝的安定性に寄与していると考えられた。

続いて第 3 章では、分生子内の核数分布が変化する変異株の取得を試みた。ヒストン H2B-EGFP により核が可視化された *A. oryzae* NHG10 株に対して変異処理を行い、単核分生子を多く形成する uni10 株を分離した。この表現型より変異形質を *mun* (multinucleate conidium defect) と命名した。uni10 株は NHG10 株と比べて分生子形成や発芽には影響が認められなかったが、核が大きく、核当りの DNA 含量が NHG10 株よりも 2 倍程度多いことがわかった。このことより、uni10 株は 2 倍体であることが示唆された。しかし、菌糸由来

のプロトプラストにおける核当りの DNA 含量を測定したところ、NHG10 株と uni10 株に差異は認められなかった。

第 4 章では、*mun* 形質を相補あるいは抑圧する遺伝子のスクリーニングを行った。*mun* 変異が劣性変異であることを示したのち、*mun* 形質を相補あるいは抑圧する遺伝子のスクリーニングを行った。約 2,000 の形質転換体より、親株と同様に多核分生子を多く形成する株を取得した。この株から Fosmid を脱落させたところ、単核分生子を多く形成する変異株の表現型を示し、脱落した Fosmid 中に *mun* 形質を野生型に回復させる遺伝子が含まれることが示唆された。

以上、本論文は *A. oryzae* の多核分生子が Phialide から分生子間において複数個の核が運搬されることにより形成されること、多核分生子は単核分生子よりも早く発芽し、紫外線に対して高い生存率を有することを示した。また、多核分生子が形成される機構を解析するために、分生子内の核数分布が変化する変異株を単離し、その相補遺伝子の取得を行った。これらの知見は産業上有用である *A. oryzae* の基礎的理解に不可欠なものであり、学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。