

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 クリストファー サラザル
エスカニョ

真正子囊菌綱に分類される糸状菌は“多細胞生物”であり、多数の細長い細胞が連なった菌糸状の形態で生育し、隣接する細胞は隔壁で仕切られている。隔壁の中心には隔壁孔と呼ばれる小さな穴があいており、隣接する細胞は隔壁孔を通じて細胞間連絡を行っている。この細胞間連絡は、動物のギャップ結合や植物の原形質連絡と共通した性質をもち、多細胞生物に特有の細胞システムの一つであると考えられる。しかし、糸状菌の細胞間連絡に注目した分子生物学的研究はほとんどない。

隔壁孔を介した細胞間連絡は、ある細胞が損傷した場合、隣の細胞も溶菌に巻き込まれるリスクを伴うことでもある。Woronin body は、真正子囊菌綱に分類される糸状菌に特異的に存在するオルガネラであり、細胞が損傷を受けたときに隣接する隔壁孔をふさぐことで溶菌の伝播を防ぐ役割をもつ。Woronin body はペルオキシソームから派生するオルガネラであることは示唆されてきたが、Woronin body の分化におけるペルオキシソームタンパク質の働きに関する詳細な研究はなかった。

本論文は、日本酒や味噌の製造や有用タンパク質生産に用いられている麴菌 *Aspergillus oryzae* を対象として、隔壁孔に関連する Woronin body と SO タンパク質について分子細胞生物学的に解析したものであり、3章からなる。

第1章では、Woronin body の分化におけるペルオキシソーム増殖因子 Pex11 の役割について解析を行った。麴菌には酵母 *PEX11* 遺伝子と相同性を有する遺伝子が2つ存在し (*Aopex11-1*、*Aopex11-2*)、これらの遺伝子について破壊株を作成した。その結果、*Aopex11-1* 破壊株でペルオキシソーム機能の欠損が認められ、ペルオキシソームの数が減少した。さらに、Woronin body の機能が低下し、ペルオキシソーム膜に結合した未分化の Woronin body が観察された。以上の結果から、AoPex11-1 がペルオキシソームの増殖とともに、Woronin body の分化にも関与することを明らかにした。

第2章では、アカパンカビの *so* 遺伝子のホモログ、*Aoso* 遺伝子を *A. oryzae* から単離し解析を行った。AoSO タンパク質について局在解析を行い、各種ストレス条件下で隔壁孔に蓄積することを見出した。また、ストレスから菌体を解放すると隔壁孔に蓄積していた AoSO が消失することを明らかにした。これらの結果から、AoSO が環境に応じて隔壁孔を介した細胞間連絡を調節するという可能性を示した。

さらに、*Aoso* 遺伝子の破壊株を作製した結果、生育は野生株と同様であった。しかし、低浸透圧ショックにより菌糸先端を溶菌させる実験において、*Aoso* 遺伝子破壊株は溶菌の伝播を防ぐ割合が低下した。溶菌した細胞に隣接する隔壁孔に AoSO が局在することが観

察されたことから、AoSO が溶菌の伝播を防ぐのに関与することを明らかにした。

第3章では、EGFP で蛍光標識した AoSO を用いて、ストレスに応答して隔壁孔に蓄積するメカニズムについて解析を行った。まず、菌糸細胞表層の特定部位にパルスレーザー処理を行ってから AoSO が隔壁孔に蓄積するまでをタイムラプス観察を行うストレス応答解析システムを構築した。培地中のカルシウム濃度を上げると AoSO が隔壁孔に蓄積するのが早くなったのに対し、カルシウムイオンのキレート剤を添加するとその蓄積の大幅な遅延が認められた。さらに、酵母 Mid1 (機械受容カルシウムチャンネル) の相同タンパク質をコードする遺伝子 *Aomid1* を破壊した株においても、AoSO の隔壁孔への蓄積に遅れが見られた。動物や植物の細胞間連絡の制御にカルシウムが関与していることが知られているが、以上の結果は AoSO がストレスに応答して隔壁孔に蓄積する過程に、カルシウム信号伝達経路が関与している可能性を示した。

以上本論文は、糸状菌における隔壁孔制御機構についての分子生物学的解析を行ったものであり、学術上、応用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。