

# Studies on the mechanism of Woronin body tethering and septal plugging function in *Aspergillus oryzae*

その他のタイトル	麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> におけるWoronin bodyの隔壁への繫留と隔壁孔をふさぐ機能の解析
学位授与年月日	2014-09-26
URL	<a href="http://doi.org/10.15083/00007828">http://doi.org/10.15083/00007828</a>

## 審査の結果の要旨

氏名 韓培

チャワントケ亜門に属する糸状菌は、菌糸状の細胞を伸長させて生育し、その菌糸では多数の細長い細胞が連なり、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、隣接する細胞はこれを介して細胞間連絡をしている。このため、ある細胞が損傷した場合、隣の細胞に溶菌が伝播するリスクをとまうが、これを防ぐのが、チャワントケ亜門に特異的なオルガネラである Woronin body である。

アカパンカビ *Neurospora crassa* において、Woronin body は細胞膜に繫留されているが、最近、この過程に必要なタンパク質 Leashin (LAH) が同定された。本論文は、Woronin body の隔壁近傍への局在機構と、その溶菌の伝播を防ぐ機能で果たす役割を解明することを目的として、*A. oryzae* の LAH 相同タンパク質の機能解析を行ったものであり、4 章よりなる。

第 1 章では、*A. oryzae* ゲノムデータベースを検索した結果、*N. crassa lah* と相同性を有する遺伝子 AO090011000895 を見だし、*Aolah* と命名した。*Aolah* 遺伝子は 5,727 アミノ酸からなる単一ポリペプチドをコードすると推定された。

続いて、AoLAH の機能解析を目的として、その遺伝子破壊株を取得した。透過型電子顕微鏡観察を行った結果、野生型株では Woronin body が隔壁近傍に観察されたが、*Aolah* 遺伝子破壊株では Woronin body が隔壁から離れたところのみ観察された。以上の結果から、AoLAH が Woronin body の隔壁近傍への繫留に必要であることを明らかにした。

低浸透圧ショックにより溶菌を誘導したところ、*Aolah* 遺伝子破壊により溶菌が伝播する菌糸の割合が増加した。このことから、AoLAH が Woronin body の溶菌の伝播を防ぐ機能に関与することを明らかにした。

第 2 章では、5,000 アミノ酸を超える巨大なタンパク質である AoLAH の機能における各領域の役割を解析した。最初に、AoLAH の N 末側の 1 番目から 2,039 番目のアミノ酸の領域について、EGFP と融合して局在を解析した。その結果、隔壁孔の両側にその局在が観察され、溶菌時には隔壁孔に移行したことから、Woronin body の局在・挙動と一致した。一方で、AoLAH の C 末側の 4,710 番目から 5,727 番目の領域の場合は、隔壁孔に局在が観察された。これらの結果より、AoLAH の N 末側の領域は Woronin body との相互作用、C 末側

の領域は隔壁孔への相互作用に機能することが示された。

第3章では、AoLAHにおいて、配列的に保存されていない約2,700アミノ酸からなる中間領域について機能解析を行った。AoLAHのN末側とC末側の領域を融合し、中間領域を欠失したタンパク質を *Aolah* 遺伝子破壊株で発現したところ、隔壁近傍に Woronin body が観察された。これは、前述のN末側とC末側の機能から予想通りの結果であったが、Woronin body が約50 nm、隔壁の近くで観察されるようになった。

また、AoLAH全長を発現している株では、隔壁に繫留された Woronin body は伸縮性の往復運動を行うが、中間領域が欠失するとその運動性は失われた。さらに、AoLAHの中間領域を欠失した場合、隔壁に繫留された Woronin body は、菌糸が損傷した際、隔壁孔をふさぐことができなかった。*Aolah* 遺伝子破壊株に、中間領域を欠失した AoLAH を発現させても、Woronin body が溶菌の伝播を防ぐ機能における相補が見られなかった。

この結果より、近縁の糸状菌の間で配列的に保存されていない2,040番目から4,709番目の領域が、Woronin body の隔壁からの距離、往復運動、Woronin body の機能を制御するのに関与することが明らかになった。

第4章では、隔壁孔局在タンパク質 AoSO と相互作用する候補タンパク質 SoiA および SoiB が欠損した株において、Woronin body の局在への影響を解析した。その結果、SoiA および SoiB が Woronin body の隔壁近傍への局在には関与しないことが示唆された。

本研究では、AoLAHタンパク質が Woronin body を隔壁近傍に局在させることにより、溶菌の伝播を防ぐ機能に関与することを示した。また、AoLAHにおいて、配列的に保存されていない約2,700アミノ酸の中間の領域が、Woronin body の機能に関与することを明らかにした。これらの研究成果は、学術上応用上寄与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。

