

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 中村 英淳

麹菌 *Aspergillus oryzae* は、我が国の伝統的な醸造産業において日本酒・醤油・味噌などの製造に利用されている糸状菌である。*A. oryzae* は有性世代が見つかっておらず、不完全菌として分類される。そのため交配を行うことができず、複数の株由来の優良な表現型を備えた株の育種を行うことが困難である。近年、*A. oryzae* において 2 つの接合型株 (MAT1-1 型、MAT1-2 型) が存在することが明らかになったことから、ヘテロタリックな有性生殖を行う可能性が示された。

菌核は、一部の糸状菌で観察される耐久性の休眠構造であり、その内部に子嚢果と呼ばれる有性生殖器官が形成されることが報告されている。*A. oryzae* では、一部の株は少ないながらも菌核を形成するが、大部分の株は菌核を形成しない。このことは、*A. oryzae* において有性世代が発見されていない理由の一つとして考えられている。

本論文は、*A. oryzae* の菌核形成能を向上させることを目的として、菌核形成に関与する因子の探索およびその分子機構の解明を行い、それらの知見を利用して菌核形成の誘導を試みたものであり、4 章からなる。

第 1 章では、*A. oryzae* の分化における、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のストレス応答調節因子 Rim15p と相同なタンパク質 AoRim15 の機能解析を行った。AoRim15 欠損株では、分生子および菌核形成がほとんど見られなかった。対して、過剰発現株では分生子形成が抑制されたが、菌核形成は顕著に誘導された。以上の結果より、AoRim15 は基本的にこれらの分化を正に制御するが、発現量が高い場合には分生子形成を抑制し、菌核形成を促進することを明らかにした。

第 2 章では、菌核形成に関与する転写因子の探索を目的として、野田産業科学研究所が所有する *A. oryzae* の転写因子遺伝子破壊株ライブラリーより、菌核形成能に影響が見られた株をスクリーニングした。転写因子遺伝子破壊株 354 株をスクリーニングした結果、49 株においてコントロール株と比較して菌核の数が半分以上に減少した。よって、これらの

転写因子をコードする遺伝子は、菌核形成を正に制御する因子であると考えられた。また、反対に菌核の数が増加した株は 26 株見いだされ、これらがコードする転写因子は菌核形成を負に制御する因子であると示唆された。

以上の結果より、*A. oryzae* における菌核形成に関与する転写因子を数多く見いだすことに成功した。

第 3 章では、第 2 章で見いだした菌核形成に関与する転写因子について、さらなる機能解析を行った。まず、菌核形成が最も増加した株で破壊されていた遺伝子 *Aoace2* を解析した。*Aoace2* 破壊株では分生子形成能が低下した一方、菌核形成が顕著に増加した。*Aoace2* を過剰発現したところ、コロニーとしての生育がほとんど見られず、溶菌している菌糸が観察された。以上の結果から、*AoAce2* は菌核形成を負に制御しているが、発現量が高い場合は生育が低下し、溶菌が起こることを明らかにした。

また、機能未知 *Zn(II)2Cys6* 型転写因子をコードする遺伝子の破壊株では菌核を全く形成しないことを見だし、当遺伝子が菌核形成を正に制御していることが示唆された。

第 4 章では、菌核形成が全く認められない *A. oryzae* の実用株において、菌核形成の誘導を試みた。菌核形成を正に制御する *SclR* および *AoRim15* の過剰発現では、菌核形成の促進は見られなかった。次に、菌核形成を負に制御する *EcdR* または *AoAce2* を欠損して、菌核形成の誘導を試みた。その結果、*AoAce2* の欠損では菌核形成の誘導は観察されなかったが、*EcdR* の欠損では菌核様構造の形成を誘導することに成功した。

本研究では、*A. oryzae* において菌核形成に関与するストレス応答調節因子と転写因子を見いだすことに成功した。そのうえで、これまで全く菌核形成が認められなかった *A. oryzae* の実用株において、初めて菌核様構造が観察されるようになった。

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。