

審査の結果の要旨

氏名 古川 智宏

マイコトキシンとはカビの生産する有毒二次代謝産物の総称であり、カビが農作物に感染し農作物をマイコトキシン汚染することで、深刻な経済的被害および人類や家畜への健康リスクをもたらしている。マイコトキシン生産を特異的に抑制する物質はマイコトキシン汚染防除剤として有効であり、それらの作用機構を明らかにすることは、未解明な部分の多いマイコトキシン生産の分子機構を解明する手がかりとなる。本論文は、マイコトキシンの中でも農作物汚染が特に問題となる、デオキシニバレノール (DON) とアフラトキシン (AF) の生産阻害物質の作用機構を解明し、マイコトキシン生産阻害に至る経路の解析を行ったものであり、三章より構成される。

序論に続き第一章では、DON 生産阻害物質である *precocene II* の作用機構を解析した結果について述べている。まず DON 生産菌である *Fusarium graminearum* における *precocene II* 結合タンパク質の精製を、*precocene II* 固定化ナノ磁気ビーズを用いて行い、ミトコンドリア外膜のチャンネルタンパク質 *voltage-dependent anion channel (VDAC)* を結合タンパク質として同定した。VDAC はミトコンドリアで発生するスーパーオキシドの細胞質基質への放出に関与していたため、スーパーオキシドの局在を、蛍光試薬を用いて調べたところ、*precocene II* はミトコンドリアのスーパーオキシド量を増大させることがわかった。さらに、スーパーオキシドジスムターゼ をコードする遺伝子を破壊した変異株を作製し、破壊株では DON 生産量が減少し、ミトコンドリア局在性のスーパーオキシド量が大きく増加していることがわかった。以上より、DON 生産はミトコンドリアのスーパーオキシド量と関連があり、*precocene II* は VDAC に結合し、ミトコンドリア内のスーパーオキシドを増加させることで DON 生産の減少を引き起こすことが示された。

第二章では、AF 生産阻害物質である *diocatin* の作用機構を解析した結果について述べている。*diocatin* 固定化ナノ磁気ビーズを用いて AF 生産菌

*Aspergillus flavus*における dioctatin 結合タンパク質の精製を行ったところ、ミトコンドリアに局在する Clp protease の触媒サブユニット (ClpP) が結合タンパク質として同定された。抗 ClpP ペプチド抗体および組換え ClpP により ClpP と dioctatin の特異的結合が確認された。ClpP はミトコンドリアに局在し、タンパク質のアンフォールディングを行うシャペロンタンパク質と複合体を形成することではじめてタンパク質を分解することができる。ClpP のタンパク質分解活性に対する dioctatin の影響を調べたところ、dioctatin 無添加では基質タンパク質は分解されないのに対し、dioctatin の添加により濃度依存的に基質タンパク質の分解が強く促進されることがわかった。また、*A. flavus* のミトコンドリアから抽出したタンパク質と組換え ClpP を混合し、dioctatin 添加により分解が促進されるタンパク質を探索した結果、ミトコンドリア呼吸鎖複体のサブユニットおよびクエン酸回路を構成する酵素が複数同定された。以上より、dioctatin が ClpP に結合することで引き起こされるミトコンドリア内のタンパク質の過剰な分解がシグナルとなり、アフラトキシン生産のスイッチが入らずアフラトキシン生産が抑制されることが示唆された。

第三章では、AF 生産阻害活性を有するシリング酸アルキルのミトコンドリア呼吸鎖複合体 II 阻害活性と、シリング酸アルキル類縁化合物の AF 生産阻害活性について述べている。シリング酸アルキルは類縁化合物である没食子酸アルキルと同様に、呼吸鎖複合体 II 阻害活性を示した。また、没食子酸アルキルおよびアルキルパラベンが強い AF 生産阻害活性を有することが示された。没食子酸アルキルには食品添加物として利用される化合物が含まれ、それらの AF 生産制御剤としての実用化が考えられた。

以上本研究は、マイコトキシン生産阻害物質の作用機構を標的分子を含めて分子レベルで解明したものであり、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。