

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 工 学 ）	氏名	河内 護之
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目			
<p style="text-align: center;">Functional analysis of histone deacetylases in <i>Aspergillus oryzae</i> (麴菌 histone deacetylase の機能解析)</p>			
論文審査担当者			
主 査	客員准教授	岩 下 和 裕	印
審査委員	教 授	土 屋 英 子	印
審査委員	教 授	山 田 隆	印
審査委員	教 授	平 田 大	印
審査委員	客員准教授	磯 谷 敦 子	印
〔論文審査の要旨〕			
<p>本論文では、ゲノムワイドな遺伝子発現制御にかかわるヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) について、麴菌を用いて、糸状菌特有の形質や産業上重要な形質と関係について網羅的な解析を行った。さらに、二次代謝物生産制御については、二次代謝のグローバルなレギュレーターである <i>laeA</i> との関連解析など、より詳細な研究を行った。</p> <p>緒言では、まず、麴菌(<i>Aspergillus oryzae</i>)は、日本の伝統的な発酵産業や酵素産業、医療産業で利用され、また酵素生産や二次代謝物生産のホストとしても注目される重要な糸状菌であることを述べている。また、histone deacetylase (HDAC)は、ヒストンの脱アセチル化を触媒するエピジェネティックな制御機構に関わる酵素の一つで、麴菌を含み真核生物で広く保存されていることを説明している。さらに、麴菌においても HDAC は重要であり、生育や形態だけでなく酵素や二次代謝物生産などの表現型に関係している事が予想されるが、全く知見がないことを説明している。以上を踏まえ、本論文では麴菌の HDAC についての系統進化的解析から機能解析までを行っている。具体的には、第1章として、麴菌ゲノム中の HDAC 遺伝子 (AoHDAC)の検索と進化系統的解析、AoHDAC 遺伝子破壊株の生育と2次代謝生産制御についての研究、第2章では、糸状菌固有の性質を中心とした AoHDAC 遺伝子破壊株の網羅的な表現型解析について、それぞれ研究を展開し、以下のようにその成果をまとめている。</p> <p>第1章では、麴菌 RIB40 株のゲノムから 11 個の AoHDAC 遺伝子を同定し、これらが酵母や他の糸状菌と同様に class1~class3 に分類されることを述べるとともに、高等真核生物が保持している class4 HDAC を欠く一方で、菌類において特異的な sirtuin <i>hstD</i> 遺伝子を有して</p>			

いることを見出している。続いて全 11 遺伝子の AoHDAC について破壊を行い、10 遺伝子の破壊株と *hdaB* のヘテロカリオン破壊株(*hdaB ht*)を得た。これらの AoHDAC 破壊株について、基本培地を用いたプレート・液体培養での表現型について解析し、 $\Delta hdaB$, $\Delta hdaD$, $\Delta hstD$ 株が菌糸成長や分生子形成などの分化に関連する表現型を示すことを報告した。さらに、糸状菌は、医薬品や化粧品等の有用物質やカビ毒など多種多様な二次代謝物(SM)を生産することから、AoHDAC と SM 生産制御の関連について解析を行い、 $\Delta hstD$ 株で、コウジ酸生産性が 200 倍上昇し、麴酸生産遺伝子の発現も上昇することを示した。また、糸状菌の *laeA* 遺伝子は、SM 生産と分化制御の中心的な因子としてよく知られていることから、 $\Delta laeA / \Delta hstD$ 二重破壊株等により遺伝学的な解析を行ない、菌類特異的 HDAC である *hstD* が、*laeA* の発現制御を介し糸状菌の SM 生産と分化を制御していることを世界で初めて明らかにした。

第 2 章では、AoHDAC 遺伝子の環境ストレスや細胞生物学的な機能について検討を行い、*hdaB ht* 株が、幅広いストレスに対し感受性を示し、*hdaB* の致死性の一因であることを考察した。また興味深い現象として、 $\Delta hdaA$ 株は、液体培養時の浸透圧ストレスに対してのみ感受性を示す一方、 $\Delta hstD$ 株は、プレート培養時の浸透圧ストレスのみに感受性を示し、*hdaA* と *hstD* が、培養条件に依存したストレス応答に関係していることを示唆した。また、Genotoxin、タンパク質分泌阻害剤、細胞壁合成阻害剤等による耐性試験では、*hdaB ht*, $\Delta hdaD$ 株は、genotoxin と細胞壁合成阻害剤に、 $\Delta hstD$ 株は、genotoxin に高い感受性を示すことを見出した。さらに、麴菌は、伝統的醸造産業において「麴」として用いられることから、米麴上での生育や酵素生産についても解析を行ったところ、*hdaB ht*, $\Delta hdaD$ 株は米麴上での生育が低下し、酵素生産が減少することを明らかにした。また、 $\Delta hstD$ 株では、生育には大きな違いが無く、酵素生産性にのみ影響が見られ、米麴上でのタンパク質生産に影響することを示唆した。

結論として、AoHDAC は、麴菌の幅広い表現型に関与することを明らかにするとともに、菌類に特異的な HDAC である *hstD* 遺伝子は菌類の重要な形質である二次代謝生産や形態分化に関わることを示した。

以上のように、本研究は、HDAC 研究の基礎的な知見として、広く生物種を超えて重要な研究である。特に菌類特異的な HDAC である *hstD* 遺伝子については、菌類の進化という観点からも重要である。さらに、麴菌は産業利用されている重要な菌類であることから、産業への展開が期待されるが、すでに本研究の成果から二次代謝物生産についての特許を申請しており、十分な貢献が期待できる。

以上より、本論文の著者は、博士（工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと判断する。