

黄麹菌*Aspergillus oryzae*におけるエンドサイトーシス関連 AAA ATPase AipA に関する研究

日浅, 怜子

<https://hdl.handle.net/2324/6787679>

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)



氏 名	日浅 怜子			
論 文 名	黄麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> におけるエンドサイトーシス関連 AAA ATPase AipA に関する研究			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	竹川 薫
	副 査	九州大学	教授	松岡 健
	副 査	九州大学	准教授	樋口 裕次郎

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

真核生物において、エンドサイトーシスは広く保存された機構であり、細胞外からの栄養源の獲得やシグナル伝達、細胞膜タンパク質の細胞内への取り込みとリサイクリング、細胞極性の維持や再構築など多くの重要な生理機能に関与している。エンドサイトーシスの詳細な分子機構は、モデル生物である酵母や哺乳類の細胞等で研究が進んでいる。糸状菌においてもエンドサイトーシスの機構は存在するものの、同じ真菌である酵母と比べるとその分子機構は未だに明らかになっていない点が多い。糸状菌のモデル生物である黄麹菌 *Aspergillus oryzae* は古来、我が国の発酵醸造産業で用いられてきた安全な微生物であり、 α -アミラーゼなどの有用酵素を大量に分泌生産する。黄麹菌の細胞内小胞輸送経路において、エンドサイトーシスは菌糸先端部の分泌経路で機能する分子を細胞膜からリサイクリングする際に重要な役割を果たしていると考えられている。先行研究において、エンドサイトーシスに関わる AoAbp1 (actin binding protein 1) と相互作用するタンパク質として、AAA (ATPase associated with diverse cellular activities) ATPase である AipA (AoAbp1 interacting protein) が同定された。AAAATPase ファミリータンパク質は、C 末端領域に一つあるいは二つの高度に保存された AAA ATPase ドメインを有し、リング状の六量体を形成して一般的にタンパク質複合体の解離や膜融合において機能を発揮する。本研究では、これまでにほとんど報告例のない、エンドサイトーシスに関わる AAA ATPase である AipA についての分子機構解析を行っている。

エンドサイトーシスにおいて、AipA および AoAbp1 が果たす詳細な機能について解析は行われていない。そこで、エンドサイトーシスを細胞生物学的に解析するために、アルギニントランスポーターである AoCan1 に改変型緑色蛍光タンパク質 EGFP を融合したマーカータンパク質を用いて解析を行った。その結果、*aipA* 破壊株では AoCan1-EGFP のエンドサイトーシスの亢進が見られた。一方で、*Aoabp1* 破壊株ではエンドサイトーシスの遅延が見られた。さらに、*aipA* と *Aoabp1* の二重破壊株を用いて解析した結果、エンドサイトーシスに遅延が見られたことから、AipA は AoAbp1 の下流で機能することを明らかにしている。また、ATPase 活性の低下している AipA^{K542A} と AipA^{E596Q} 変異体を用いて同様のエンドサイトーシス解析を行った。その結果、(1) AipA^{K542A} 単独発現ではエンドサイトーシスにおいて *aipA* 破壊と同様の表現型を示し、内在性の AipA 存在下で過剰発現しても影響は無い、(2) AipA^{E596Q} 単独では AipA 様に機能するものの、内在性の AipA 存在下で過剰発現すると内在性の AipA の機能を抑圧することを明らかにした。以上の結果から、AipA がエンドサイトーシスを負に制御する新規因子であり、その機能には ATPase 活性が重要であることを明らかにしている。

AipA の機能に関連する新規因子の同定を目的として、酵母ツーハイブリッドならびに免疫沈降法による相互作用タンパク質のスクリーニングを行った。酵母ツーハイブリッド法では、出芽酵母

の AipA オルソログで報告されているエンドサイトーシスに関連する相互作用タンパク質の黄麹菌におけるオルソログに絞った解析を行ったものの、AipA との相互作用タンパク質は同定されなかった。一方で、免疫沈降法の結果からは、小胞体からゴルジ体への小胞輸送に関わる AoSec13 が同定されている。これらの結果から、AipA と相互作用する新規因子について、エンドサイトーシス以外の経路で機能すると考えられるタンパク質である AoSec13 を明らかにしている。

以上要するに、本研究は黄麹菌 *A. oryzae* を用いて、AAA ATPase である AipA のエンドサイトーシスに関わる新規分子機構を明らかにしている。さらに、エンドサイトーシス経路と分泌経路を結び付ける新たな分子機構の存在についても可能性を示した。これらの研究内容は応用微生物学および分子細胞生物学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士(農学)の学位を得る資格を有するものと認める。