

(様式 4)

別紙 2

## 論文審査の結果の要旨

学位申請者 Daranagama Arachchige Nayani Dhanushka Daranagama

本論文は、「Study on gene regulation of protease in filamentous fungus *Trichoderma reesei*」と題し、以下に示す 4 章より構成されている。

第 1 章「Introduction」では、研究の背景および糸状菌における糖質加水分解酵素遺伝子の転写制御に関するこれまでの知見をまとめるとともに、糸状菌のプロテアーゼの概要を示し、本研究を行う意義を明確にしている。

第 2 章「Role of Trichoderma pepsin in *T. reesei*」では、*T. reesei* のセルラーゼ生産条件下で生産されるプロテアーゼ TrAsp の生理学的役割に焦点を当て、その酵素学的性質および詳細な生産条件について述べている。植物バイオマス由来の糖を炭素源としたときに分泌生産されるタンパク質の中からプロテアーゼである TrAsp を見出した。その遺伝子破壊株を解析した結果、TrAsp はセルラーゼの分解に関与しており、セルラーゼを用いた植物のバイオマス分解においても負の影響を与えることを明らかとした。また、TrAsp はセルラーゼの生産を促進する炭素源であるセルロースにおいても発現するが、セルラーゼがほとんど生産されない炭素源であるガラクトースで高生産されることを明らかにした。

第 3 章「Cis acting element analysis of Trichoderma pepsin in *T. reesei*」では、*T. reesei* における TrAsp の遺伝子発現制御の詳細について述べている。TrAsp 遺伝子の発現を司る遺伝子上流領域の解析により上流 -880 bp から -670 bp 間転写活性化領域であることを明らかにした。さらに、この領域内にはセルラーゼ遺伝子の転写活性化因子である Xyr1 および窒素源代謝を制御する転写調節因子である Are1 が結合することを明らかにした。あわせて、*in vivo* の解析から TrAsp の発現は Are1 によって転写活性化されること、転写活性化因子である Xyr1 によって抑制されるという極めて興味深い現象を明らかにした。また、*T. reesei* における種々の転写調節因子のうち炭素源以下抑制に関与する Cre1、キシラーゼ遺伝子の発現抑制に関与する Xpp1、環境 pH に応答した転写調節因子である Pac1 が TrAsp の発現を抑制することを明示した。

第 4 章「General conclusion」では、本研究における一連の研究成果について総括するとともにプロテアーゼ遺伝子の転写制御機構を解明するための展望を述べている。

よって、本論文は工学上及び工業上貢献するところが大きく、博士（工学）の学位論文として十分な価値を有するものと認める。

審査委員主査 小笠原 渉 印