

(様式4)

別紙2

論文審査の結果の要旨

学位申請者 今西 大生

本論文は、真核生物で多様な生理機能や疾患との関連が報告されている D-アスパラギン酸オキシダーゼ (DDO) の D-アスパラギン酸 (D-Asp) による誘導発現機構の解明を目的とし、酵母 *Cryptococcus humicola* UJ1 株における D-Asp の細胞内輸送を担うアミノ酸パーミアーゼ (Aap) の同定、D-Asp の細胞内シグナル伝達経路への影響とピルビン酸カルボキシラーゼ (Pyc) の DDO 発現への影響について解析した一連の研究成果をまとめている。

序章では、生体における D-Asp と DDO の生理機能と DDO 遺伝子の酸性 D-アミノ酸依存的な誘導発現に関する研究について概説し、本研究の目的を示している。第1章では、UJ1 株において D-Asp 細胞内輸送に関与する Aap (ChAap) を同定し、UJ1 株の DDO 遺伝子 (*ChDDO*) の D-Asp 依存的な誘導発現との関係性を解析している。分子系統解析から、D-Asp 細胞内輸送に関与する可能性のある AAP 遺伝子を7個 (*ChAAP1, 4, 5, ChGap1-4*) 推定し、遺伝子破壊株の解析から、これらのうち6個の Aap (*ChAAP1, 4, ChGap1-4*) が D-Asp の細胞内輸送を介して *ChDDO* 遺伝子の誘導発現に寄与することを明らかにしている。さらに、酸性と中性 pH 条件下では、ChAap1, 4 と ChGap1-4 を含む複数の Aap が D-Asp の細胞内輸送を担うのに対して、高アルカリ性 pH 条件下では、ChAap4 が D-Asp 細胞内輸送を主に担うことを明らかにしている。第2章では、RNA-seq 解析により、UJ1 株において D-Asp 特異的に発現が変動する遺伝子を網羅的に解析し、D-Asp が細胞内シグナル伝達経路に与える影響を考察している。D-Asp は、ヌクレオチド合成、リボソーム合成やアミノ酸合成などに関与する遺伝子の発現を誘導し、オートファジーや細胞周期などに関与する遺伝子の発現を抑制したことから、D-Asp が GAAC (general amino acid control) 経路と TORC1 (target of rapamycin complex 1) 経路を同時に活性化する可能性が示されている。一方、*ChDDO* 遺伝子発現は、これらシグナル伝達経路とは異なる未知の D-Asp シグナル伝達経路により誘導されることで、細胞の正常化に寄与する可能性が示されている。第3章では、UJ1 株の Pyc (*ChPyc1*) と *ChDDO* 遺伝子の機能発現との関係性を解析している。*ChPYC1* 遺伝子破壊株の解析から、*ChPyc1* は TCA 回路のアナプレロティック酵素として機能することが明らかにされている。また、*ChPYC1* 遺伝子破壊株において、*ChDDO* 遺伝子の発現は転写レベルで低下しており、外部からのピルビン酸の添加はさらに発現を低下させるが、野生株では逆に増加させることを明らかにしている。このことから、*ChDDO* 遺伝子の発現は D-Asp だけでなく、ピルビン酸代謝レベルによっても部分的に制御されていることが明らかにされている。

本研究で得られた知見は、真核生物の D-Asp と DDO が関わる生理機能、病態の解明やその治療法の開発に大いに役立つものである。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 高橋 祥司 印