

## 論文審査の結果の要旨

学位申請者 JULIANO DE OLIVEIRA PORCIUNCULA

本論文は、「Molecular Evolution of *Trichoderma reesei* Mutants (*Trichoderma reesei* セルラーゼ高生産株の分子学的進化)」と題し、以下に示す4章より構成されている。

第一章では研究の背景、*T. reesei* セルラーゼ高生産変異株造成の世界的開発動向および糸状菌におけるセルラーゼ・キシラナーゼ遺伝子の転写制御機構に関するこれまでの知見をまとめ、本研究を行う意義を明確にしている。

第二章では、日本を代表するセルラーゼ高生産変異系統である *T. reesei* PC-3-7 株に着目して、次世代シーケンサーを用いた比較ゲノム解析を行い、変異株進化の過程でゲノム中に導入された一塩基多型の同定を行っている。また、比較ゲノム解析によって得られた塩基配列データを詳細に解析し、*T. reesei* PC-3-7 株のセルラーゼ高生産化に関与していると推定される変異点の選抜を行っている。さらに、同定された変異点のうち、炭素源異化抑制因子である *cre1* に導入された点変異をモデルとして詳細な機能解析を実施し、*cre1* に導入された一塩基置換が *T. reesei* PC-3-7 株のセルラーゼ高生産化の一因であることを明確にしている。また、本研究によって確立された研究手法は、*T. reesei* のみならず他の有用微生物変異系統に対しても応用可能であり、今後の有用微生物の変異株開発に重要な知見を与えるものである。

第三章においては、*T. reesei* PC-3-7 株を用いた工業的規模でのセルラーゼ生産を踏まえ、安価なセルラーゼ誘導物質として注目されているラクトースによるセルラーゼ生産機構に焦点を当て研究を展開している。特にラクトース培養条件下で誘導物質の取り込みに関与するトランスポーターの同定を目指し、ゲノム情報およびマイクロレイ解析を駆使して、3種の推定ラクトーストランスポーター遺伝子の同定を行っている。また、これら推定遺伝子の遺伝子破壊株の構築を行い、各菌株の表現型の詳細な解析から、Major facilitator Superfamily に属する二つの糖質輸送タンパク質がラクトースの輸送およびセルラーゼ生産に重要な役割を果たしていることを明らかにしている。本研究によって、これまでほとんど知見のなかったセルラーゼ誘導物質の取り込み経路が明らかとなり、工業的セルラーゼに向けたさらなる菌株改良への指針を得ることが可能となった。

第四章では本研究で得られた一連の研究成果について総括するとともに、工業的に有用な微生物を育種開発するための今後の展望について述べている。

本論文で得られた知見および結論は、*T. reesei* 変異株におけるセルラーゼ高生産化の解明とその工業的利用に大いに役立つものである。このように本論文は学術的にも工学的にも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