

氏名(本籍)	ささききよたけ	よしひろ	(東京都)	
学位の種類	博士(理学)			
学位記番号	博乙第715号			
学位授与年月日	平成3年10月31日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
審査研究科	生物科学研究科			
学位論文題目	Biochemical Studies of a Microspore Specific Nuclear Protein in Lily (ユリ花粉母細胞に特異的な核タンパク質の生化学的研究)			
主査	筑波大学教授	理学博士	原田	宏
副査	筑波大学教授	理学博士	岡田	益吉
副査	筑波大学教授	理学博士	柳沢	嘉一郎
副査	筑波大学教授	理学博士	藤伊	正

論 文 の 要 旨

減数分裂期には染色体の対合、組換え、高度の凝縮などが起きる。これらの現象に関与する物質がクロマチンに存在すると想定される。そこでこのような物質の検索とその機能の解析を行った。

実験には、花粉母細胞が大きく比較的多量に得られ、蕾の長さと同様に花粉のステージに高い相関関係があり、同一葯内の細胞周期が高度に同調しているなどの点からカノコユリを用いた。

まず2次元電動泳動によりカノコユリ花粉母細胞に特異的な核タンパク質が存在することを確認し、PMCP (Pollen Mother Cell Protein) と命名した。PMCPの生合成ピークは前減数分裂のS-G₂期であった。このタンパク質は泳動距離がH1ヒストンに近いこともあり、他のタンパク質のリン酸化などの修飾物とも考えられたが、PMCPに特異的なポリクローナル抗体が作成でき、実験を進めた結果、そのようなことはないことを明らかにした。さらにこのPMCPをHPLCとC-18の逆相カラムで分離精製し、アミノ酸組成を決定することができた。その結果、PMCPはリジン、アルギニン含量がそれぞれ13%、2% (H1ヒストンはそれぞれ22%、2%) であり、コアヒストンよりむしろリンカーヒストンに分類され得ることが明らかになった。また、このPMCPはほ乳類の精巢に特異的なH1の小成分であるH1tに類似していた。

次にこのPMCPの機能について検討した。まず核内のどこにあるか明らかにするためにヌクレアーゼで処理し画分を行ったところ、大部分は鋳型活性の低いヌクレオソーム画分に集中した。実験に使用した花粉母細胞の鋳型活性の高い画分には組換えに関するP-chromatinが存在すると考えられるのでPMCPは組換え、遺伝子発現よりむしろ染色体の凝縮に関与すると考えられる。さらにPMCPはヌクレオソームを電気泳動で分離した実験からリンカー部分に存在することが示唆さ

れた。また、*in vitro*ではH 1 キナーゼによりリン酸化されることも明らかにされた。染色体の凝縮はH 1 ヒストンのリン酸化が引金である。ユリの根端細胞の中期染色体は $22\mu\text{m}$ に対して花粉母細胞のそれは $12\mu\text{m}$ と報告されているのでH 1 ヒストンだけでなくPMCPも凝縮因子として機能している可能性が高い。

リンカーDNAを優先的に切断するヌクレアーゼを用いて限定分解，完全分解条件下でのPMCPの存在様式について調べたところ差異が認められた。限定分解条件下でPMCPはヌクレオソームのダイマー以上に，完全分解条件下ではモノマーに検出された。このことから筆者はPMCPは2分子のヌクレオソームコアを強く結びつけていると考えた。第一分裂組換え期のクロマチンではnick transferase，内生のnuclease等の活性が上昇することが知られているので，PMCPはこの時期のクロマチンを保護する機能を持っていると考えられる。

本論文では，以上のことにより，花粉母細胞に特異的な核タンパク質（PMCP）を検出して精製を行い，リンカーヒストンであることを示唆した。また，PMCPの機能として染色体の凝縮，組換え期におけるクロマチンの保護ということが有り得ることを示した。

審 査 の 要 旨

本研究において筆者は，細胞学及び生化学に関する豊富な知識と経験を生かし，高等植物の初期花粉形成過程（減数分裂）のクロマチンについて解析した。その結果，花粉母細胞に特異的な核タンパク質（PMCP）を精製してその特徴を明らかにし，リンカーヒストンであることを示した。また，そのPMCPの機能として染色体の凝縮，組換え期に置けるクロマチンの保護ということが有り得ることを示しており，今後の研究の発展の基礎となる示唆に富むもので高く評価される。

よって，著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。