

氏名(本籍)	かとう まりこ 加藤 磨理子 (東京都)		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博甲第 1,601 号		
学位授与年月日	平成 8 年 10 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生物科学研究科		
学位論文題目	Studies on the Genome Rearrangement in <i>Tetrahymena</i> : A Micronucleus-Specific Sequence and Its Binding Factors (テトラヒメナのゲノム再編成に関する研究-小核特異的配列とその結合因子-)		
主査	筑波大学教授	理学博士	平林 民雄
副査	筑波大学教授	農学博士	田 仲 可 昌
副査	筑波大学教授	理学博士	高 橋 三保子
副査	筑波大学助教授	理学博士	沼 田 治

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

テトラヒメナは、栄養増殖期に遺伝子発現を行っていない小核と、活発に遺伝子発現を行っている大核の2種類の核を持つ。どちらの核も、有性生殖過程で小核由来の受精核より新たに形成される。その際に、新生大核でのみ、ゲノムの断片化、ゲノム中の小核特異的配列の欠失などの大規模なゲノム再編成が起きる。しかし、特定の遺伝子領域での再編成機構やその生物学的意義はほとんど明らかになっていない。

本論文において、著者は、再編成が起きる新生大核で転写の急激な活性化が起きることから、ゲノム再編成により核全体の遺伝子発現が制御されるという仮説を立てた。まず、カルモジュリン (CaM) 遺伝子領域で再編成が起きていることを証明し、さらにその再編成領域に結合する核蛋白質因子の存在とその結合配列を同定した。本論文で得られた新知見は、小核特異的配列の再編成が遺伝子発現を制御する可能性を示している。

第一章において、小核と大核のCaM遺伝子をサザンハイブリダイゼーション法により解析し、CaM 遺伝子上流の大・小核ゲノムDNAの塩基配列を決定した結果、小核のCaM遺伝子上流に存在する1,384bpの配列が、大核では欠失していることを発見し、CaM 遺伝子領域で再編成が起きることを示した。また、この小核特異的配列に類似した配列が小核ゲノム中に多数存在すること、それらの配列も大核では全て切り出されていることを明らかにし、小核特異的配列が小核ゲノム全体の遺伝子発現調節を行う可能性を示した。

第二章において、ケルシフトアッセイ法によりこの小核特異的配列に結合する核蛋白質が存在することを明らかにした。さらに、この因子の部分精製を行い、ゲルシフトアッセイ法とDNaseIフットプリンティング法を用いて、因子とDNAの結合の配列特異性を示し、この因子が結合するDNAの配列を同定した。栄養増殖期、即ち小核が遺伝子発現を行っていない時期にのみ、この因子が小核特異的配列への結合活性を持つことから、この因子が小核の遺伝子発現抑制機構に関係している可能性を示唆した。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は繊毛虫で、一つの受精核から遺伝子発現を行う大核と遺伝子発現を行わない小核が分化するしくみとゲノム再編成との関係を追究したものである。著者は小核由来の受精核から大核が分化する過程で起こる小核特

異的配列の欠失により、大核が遺伝子発現活性を持つという仮説を立てた。この仮説にそって、著者は小核のCaM遺伝子の上流に小核特異的配列が存在することを発見し、その全塩基配列を決定した。この小核特異的配列は機能が判っている遺伝子の近傍に存在すること、この小核特異的配列に類似した配列が小核ゲノム中に多数存在することの2点で全く新しいタイプの小核特異的配列であった。さらに、この小核特異的配列に結合する蛋白質を調べ、増殖期の細胞に存在する結合蛋白質を見出し、この蛋白質が結合するDNAの配列を決定した。小核は増殖期には全く遺伝子発現を行わないが、接合期の特定の時期に遺伝子発現を行う。著者が発見した結合蛋白質は増殖期のみが存在することから、小核特異的配列に結合して遺伝子発現を抑制する因子の候補の一つであると考えられる。

遺伝子発現調節機構は細胞の分化や増殖において最も重要なしくみであり、世界中の研究者が注目し、競争の激しい研究分野である。著者は遺伝子を発現する大核と発現しない小核の2種類の核を持つという繊毛虫の特徴に注目し、小核特異的配列による遺伝子発現の調節という仮説を立て、着実に研究を進め遺伝子発現調節に関与する可能性を持つ蛋白質因子を同定した。ユニークな材料と独自の着想を持って、遺伝子発現調節の解明に取り組み、上述のように優れた成果を上げた本研究は高く評価できるものである。

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。