

氏名(本籍)	ふくもと りょう へい 福本亮平(福岡県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第2247号
学位授与年月日	平成12年3月24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	Sexual Cell Division-inducing and Chemotactic Pheromone in <i>Closterium ehrenbergii</i> (ミカツキモ <i>Closterium ehrenbergii</i> の有性分裂誘導および走化性フェロモン)
主査	筑波大学教授 理学博士 鎌田 博
副査	筑波大学教授 理学博士 井上 勲
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 佐藤 忍

論文の内容の要旨

有性生殖の様式は生物種によって異なるが、藻類では配偶子間の相互認識の過程で、拡散性のフェロモンによって情報交換が行われる例が多数報告されている。ヘテロトリックなミカツキモでは+型、-型と呼ばれる接合型(性)を持ち、有性生殖の際には、①有性的なペア形成および配偶子への分化、②両配偶子のプロトプラスト化、③それらの融合による接合子の形成が順を追って進行する。ミカツキモの一種である *Closterium peracerosum-strigosum-littorale complex* (*C.pslc*) を用いた研究により、プロトプラスト化に関わる二種類の性フェロモンの存在が明らかとなっているが、有性的なペア形成および配偶子への分化の過程については詳細が不明であった。本研究は、より理解しやすい別種のミカツキモ *C.ehrenbergii* を用いて、これらの過程に注目し、細胞間相互認識に関わる事象を明らかにすることを目的に行われた。

まず、走化性フェロモン活性を解析するため、+型細胞と-型細胞をアガロースで隔てて培養した結果、+型細胞はアガロース中に侵入し、-型細胞の存在する方向へと移動することが判明した。+型細胞を誘引する活性は、-型細胞を単独で培養した培地の上清中にも確認された。この培地を濃縮し、ゲルろ過によって分画したところ、活性は見かけの分子量が1-2万の付近に溶出された。一方、有性分裂誘導フェロモン活性を解析するため、+型と-型の両細胞を混合培養して接合を行わせた後、その培地上清を回収し、+型細胞を単独で培養したところ、その有性分裂が誘起され、プロトプラストを放出する細胞も確認された。+型細胞と-型細胞の混合比率を6:0から0:6まで変えて培養し、培地中に放出される活性を測定したところ、+型細胞の存在下で-型細胞数の増加に伴って活性の増加が見られ、この活性が-型細胞に由来するものと推測された。Superose12カラムによる分画では、見かけの分子量が1-2万の付近で活性が確認され、またSDS-PAGEによって解析したところ、活性の見られた画分と挙動をともにする20kDaのタンパク質の単一のバンドのみが検出された。分子量に加え、-型細胞から放出される等の点で有性分裂誘導フェロモンと走化性フェロモンとの類似性が見られたため、Superose12の各画分を用いて+型細胞を誘引する活性を測定したところ、有性分裂誘導活性の溶出位置と一致する位置に走化性活性も検出され、両活性が同一のフェロモンの働きによっていることが示された。

次に、有性分裂誘導フェロモン精製標品の部分アミノ酸配列を決定し、その情報をもとにプライマーを作製し、RACE-PCR法によって全長cDNAを得た。相同性検索の結果、*C.pslc* から単離された性フェロモン PR-IP Inducer との間にアミノ酸レベルで高い相同性(49.4%)が見られた。PR-IP Inducer は、*C.pslc* の+型細胞からの PR-IP の放

出を誘起する性フェロモンであり、ミカヅキモ属が種分化していく過程でフェロモンの機能分化も起こった事実を提示している。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文において、藻類ミカヅキモの有性生殖過程のうち、従来不明であった過程、すなわち走化性と有性分裂の両過程を詳細に解析し、両者が同一のフェロモンによって制御されている可能性を提示したことは高く評価できる。C.ehrenbergiiでは、生殖的に隔離された多数のグループが知られており、これらの集団における性フェロモンの分子構造の違いを明らかにすることなどが今後の課題として残されているものの、ミカヅキモの有性生殖過程に関わるフェロモンを明らかにした本研究は、植物の有性生殖機構の解明に多大な貢献をすることが期待され、また、生殖的隔離や種分化の機構の解明への貢献も期待される。

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。