

氏 名 (本 籍)	し みず み ほ 清 水 美 帆 (茨 城 県)
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 2448 号
学位授与年月日	平成 12 年 6 月 30 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	Functional Analysis of Genes Expressed in Dictyostelium discoideum Gemetes Using Est Data (EST を用いた細胞性粘菌の配偶子で発現する遺伝子の機能解析)
主 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 林 純 一
副 査	筑波大学教授 理学博士 山 根 國 男
副 査	筑波大学助教授 理学博士 漆 原 秀 子

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、塩基配列決定技術や生物情報処理技術の飛躍的な向上と普及を背景として、ゲノムの網羅的な構造解析によって遺伝情報の全体的な理解を目指す試みが、ヒトをはじめとする様々な生物種のゲノムプロジェクトとして国内外で遂行されている。しかしながら、遺伝子機能の解析は個別的な対処が必要な場合が多く、塩基配列情報の蓄積に立ち後れているのが現状である。本研究では、細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* の有性生殖を実験系として、配偶子で発現する遺伝子について構造解析結果を利用したシステムチックな機能解析を試みた。

まず、塩基配列決定が行われている *D. discoideum* 配偶子 cDNA の 1122 クローンの中から、相同性検索結果をもとにして既知遺伝子や基本的代謝に関わると考えられるものを除去し、さらに遺伝子の全長が含まれると考えられるクローン 111 を選抜した。それらについて性的成熟の前後における発現解析を行った結果、発現が誘導される遺伝子 23 種類、逆に抑制される遺伝子 9 種類を同定することができた。次に、これら発現の変化する 32 クローンに、既知の有性生殖に関与する遺伝子と高い相同性を示したクローン、細胞膜上への局在が予測されたクローン等を追加し、遺伝子機能をアンチセンス RNA による機能阻害と、遺伝子破壊株の作製によって実験的に検証した。作製した形質転換体については、細胞増殖・無性的発生過程である子実体形成・有性的発生過程であるマクロシスト形成を観察し、いくつかの遺伝子について興味深い知見を得ることが出来た。今回新奇遺伝子として同定された *DdTCP-1* と *DdFH* については、以下の結果が得られた。

*TCP-1* 遺伝子はマウスにおいて精子形成への関与が示唆されている。*DdTcp-1* アンチセンス変異株は細胞増殖に遅滞を示し、無性的発生が途中で停止するという異常が観察された。ところが当初の予想に反して有性的発生経路に異常は見つからず、今回用いられた条件下では有性生殖経路に *DdTcp-1* は関与しないことが示唆された。また、2 種類の flavohemoglobin 相同遺伝子 *DdFHa*, *DdFHB* はゲノム中に近接して存在し、性的成熟をもたらす条件の一つである液体培養によって発現の増加が誘導されることが観察された。さらに、各遺伝子破壊株及び両遺伝子破壊株を作製して機能の検証を試みたところ、破壊株では細胞の大きさの増加、高濃度のグルコース存在下における生存率の減少が引き起こされた。これらのことから *DdFH* は性的成熟を誘導する条件下で発現し、環境条件への適応に働くと考えられる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

様々な生物種においてゲノムの構造解析が進行することにより、未だその機能が明らかでない遺伝子が大量に残されている事実が浮かび上がってきた。今日、塩基配列決定に続くべき遺伝子の大規模機能解析が緊急の課題となっていることは、ゲノムサイエンスに関わる研究者の共通の認識である。本研究では、配偶子分化や配偶子間相互作用の遺伝子支配の全貌を理解するためには配偶子で発現している遺伝子群全体を把握する必要があるという考えに立って、蓄積された配列情報を用いたシステムチックな遺伝子の機能解析を試みている。分子遺伝学的手法の確立された*D. discoideum*を材料に、これまでに殆ど知られていなかった性的成熟に伴って発現が変化する遺伝子を多数同定したことは、配偶子機能の研究に新たな知見を与え、今後の研究に大きく貢献するものである。また *DdTCP-1*, *DdFH* 遺伝子の解析に代表される配列情報から機能阻害実験に至る過程は、小規模ながらゲノムワイドな機能解析の基本パターンとして意義深い。とりわけ、上述した機能解析の重要性が広く認識される以前からこの課題に取り組んできた先見性と独創性は、高く評価できる。

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。