

氏名(本籍)	まつだあつし 松田厚志(神奈川県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第2780号
学位授与年月日	平成14年3月25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	Inheritances of Behavioral Mutant <i>pawn-B</i> in <i>Paramecium tetraurelia</i> (ヒメゾウリムシの行動突然変異体の <i>pawn-B</i> 遺伝)
主査	筑波大学教授 理学博士 高橋三保子
副査	筑波大学教授 理学博士 小熊讓
副査	筑波大学教授 理学博士 白岩善博
副査	筑波大学教授 農学博士 田仲可昌

### 論文の内容の要旨

原生動物繊毛虫のヒメゾウリムシ (*Paramecium tetraurelia*) の遺伝子は基本的にはメンデル式の遺伝を示すが、細胞質遺伝などの非メンデル遺伝も知られている。繊毛虫は、生殖核である小核と栄養核である大核という機能の異なる二種類の核をもち、遺伝子発現は大核で行われる。大核ゲノムは有性生殖のたびに崩壊し、小核ゲノムから新たにつくられる。この新大核発生時には染色体の断片化、テロメアの付加、小核特異的配列 (IES; internal eliminated sequence) の除去など、大規模な遺伝子再編成が行われ、それぞれの遺伝子は約1000コピーに増幅される。ヒメゾウリムシには、接合と自家生殖 (autogamy) という二種類の有性生殖があり、接合では、接合型の異なる二細胞間で遺伝子が交換される。自家生殖は一つの細胞で行う有性生殖であり、半数体の核が有糸分裂してできる同じ遺伝子型を持つ配偶核が受精するため、すべての遺伝子をホモに持つ子孫が得られる。ヒメゾウリムシの遺伝解析はこの二種類の有性生殖を組み合わせて行われるが、どちらの有性生殖においても新大核が発生し、遺伝子再編成が行われている。近年、いくつかの細胞質遺伝はこの繊毛虫の二核性と遺伝子再編成過程が密接に関わることが示され、その分子機構が明らかになりつつある。

著者は *pawn-B* 行動突然変異体の遺伝学的解析を行う中で、これまでに報告されていない非メンデル式遺伝を偶然に見出した。3つの *pawn* 突然変異体 (*pwA*, *pwB*, *pwC*) は、これまで単純劣性の遺伝子に支配されていると考えられてきた。ところが、*pwB* に属する3つの株は非メンデル遺伝を含むそれぞれ特有の遺伝を示すことを明らかにしたもので、論文は以下の4部で構成されている。

1) 株 d4-96 の遺伝様式: 株 d4-96 を野生型と交雑すると、この交雑から自家生殖により得られた野生型ホモ接合体であるはずの  $F_2$  は、*pwB* 遺伝子座に関してホモ接合体ではない事を明らかにした。詳細な交雑実験により、d4-96 はその小核に *pwB*<sup>96</sup> 対立遺伝子の乗る染色体を四本持つ「テトラソミー (tetrasomy)」であることを証明した。

2) 株 d4-95 の遺伝様式: 株 d4-95 と野生型を交雑すると、野生型の遺伝子をもつ  $F_1$  や  $F_2$  が *pawn* の形質を示すことがあった。また、野生型ホモ接合体であるはずの  $F_2$  は、その後の自家生殖によって野生型と *pawn* の子孫を生じ、さらに *pawn* から野生型の子孫を生じることもみられた。このような現象は、染色体の倍化によっても説明できない非メンデル遺伝である。*pwB* 遺伝子を野生型と比較し、この株の小核および大核に変異 *pwB*<sup>95</sup> 遺伝子が多数保持されていることを証明した。さらにこの株を野生型に繰り返し戻し交配を行い、野生型の遺伝的背景に置き換えると、d4-95 に見られた非メンデル遺伝の頻度が減少し、*pwB*<sup>95</sup> ホモ接合体は正常なメンデル遺伝を示すよ

うになった。したがって、増幅した変異遺伝子がこの株における非メンデル遺伝の直接の原因であると示唆される。

3) 株 d4-662 の遺伝様式：四番目の *pawn* の遺伝子座と考えられていた *pwD* (株 d4-662) は異なる遺伝子座と考えられていた *pwB* と、細胞質移植によって相補性を示さず、核質移植によっても相補性が見られなかったため、*pwD* ではなく *pwB* の対立遺伝子であると考えられる。しかし、株 d4-662 は、株 d4-95, d4-96 との交雑により野生型の子孫を生じた。遺伝解析の結果、株 d4-662 は *pwB<sup>662</sup>* 対立遺伝子に支配されていること、*pwB<sup>662</sup>* と *pwB<sup>95</sup>* や *pwB<sup>96</sup>* とのヘテロ接合体が野生型の表現型を発現する可能性があることを明らかにした。これは、大核発生時の遺伝子再編成において何らかの対立遺伝子間相互作用があり、変異遺伝子から野生型の遺伝子をつくり出す機構が存在することを示唆する。

4) d4-662 の野生型への復帰現象の分子遺伝学的解析：d4-662 は、試験管培養では野生型の行動を示す細胞を生じる。d4-662 は大核発生時に *pwB* 遺伝子の小核特異的配列 (IES) を除去できないことが報告されている。復帰細胞の大核 DNA および転写産物には、IES の除かれた野生型 *pwB<sup>+</sup>* 遺伝子が同定されたが、変異型細胞には IES の除かれた *pwB<sup>+</sup>* 遺伝子が検出されなかった。したがって、自然発声的な IES の切り出しが d4-662 における表現型復帰の原因である事が明らかとなった。

#### 審 査 の 結 果 の 要 旨

著者はヒメゾウリムシの行動突然変異体 *pwB* に属する株が、報告されていた単純劣性のメンデル遺伝ではなく、それぞれ異なる原因による正常とは異なる遺伝をすることを発見した。生殖核である小核における特定の染色体や遺伝子の増幅は、繊毛虫では初めての発見である。また、特定遺伝子の増幅が非メンデル遺伝の原因となること、大核発生時において変異遺伝子から野生型の遺伝子が再編成により生じるような相同染色体間に相互作用があることも示唆しており、これらも全く新規の知見である。複雑な現象を緻密に組み立てた交雑実験と分子遺伝学的手法を駆使して証明したもので、国際的にも高い評価を得ている。

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。