

|         |   |      |         |
|---------|---|------|---------|
| 氏名(本籍)  | いし だ けんたろう<br>石 田 賢太郎 (神奈川県)  |      |         |
| 学位の種類   | 博 士 (理 学)   |      |         |
| 学位記番号   | 博 甲 第 3722 号  |      |         |
| 学位授与年月日 | 平成 17 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   | 生命環境科学研究科   |      |         |
| 学位論文題目  | Cytological Studies of the Sexual Development in <i>Dictyostelium discoideum</i><br>(細胞性粘菌の有性的発生過程における細胞学的研究) |      |         |
| 主 査     | 筑波大学教授  | 理学博士 | 漆 原 秀 子 |
| 副 査     | 筑波大学客員教授  | 理学博士 | 上 田 太 郎 |
| 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 | 沼 田 治   |

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

有性生殖の中心的な過程である受精は、配偶子間の細胞融合とそれに続く核融合によって接合子を形成し、新しい世代の個体を発生させる重要な意義をもつ。本研究は単純な体制で分子生物学的解析にも適している細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* を用いて、接合子形成の分子メカニズムを明らかにする目的で行われた。*D. discoideum* は過剰な水分と暗条件で性的に成熟し、相補的な交配型の細胞と融合して接合子巨細胞を形成する。接合子は周囲の細胞を集めて貧食作用でとりこみ、マクロシストと呼ばれる休眠構造へと発生する。論文では、まず初期の細胞融合によって形成される巨大な多核融合細胞が、局所的なランダムな細胞運動によって頻繁に分裂することを見出した。分裂した細胞が再融合し、さらに分裂を繰り返すという混沌とした状態は、巨細胞の周囲に細胞が集合するようになるまで継続した。すなわち、*D. discoideum* の交配においては配偶子の融合は接合子形成および発生開始に直結していない。共焦点顕微鏡による観察と FACS による分離核内 DNA 量の解析から、多核融合細胞が細胞分裂を停止する時期には細胞内の核数は 2 核まで減少しており、その後核融合が起きること、また、巨大多核細胞では細胞質中に散在していた微小管形成中心が 2 核になった細胞ではそれらの核の間に対になって存在し、最終的にただ 1 個になること等が明らかになった。微小管やアクチンの重合阻害剤を投与する実験によって、前者は核融合が開始されるまで、後者はさらに進んで接合子の周辺に細胞が集合するまで必須であることが示された。細胞運動や食作用の制御に重要な働きをすることが知られている rasGEFB, rasS の遺伝子発現が細胞運動の停止期直前に増加することが見出されたことなどから、配偶子間の融合後新しい個体が確立されるためには、一連の制御されたプロセスの必要なことが示唆された。ここで示された接合子形成に先立って融合細胞が分裂するという一見逆説的な現象も、実は生理的な意味を持っていると考えられる。細胞性粘菌の配偶子は分裂増殖を継続するので、野外で細胞性粘菌の相補的な交配型のコロニーが接するような領域では、一度に多くの細胞が融合してしまう可能性がある。そのような場合にはいったん分裂して核数を調整する必要があるであろう。クラミドモナスの鞭毛消化、受精卵での極体の放出など、配偶子間相互作用から核融合までの間に細胞内プロセスがさまざまな生物で観察されている。本論文で発見された上述の細胞分裂は、細胞性粘菌における正常な接合子形成のための

プロセスであると位置づけられる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

受精は有性生殖の中心的過程で極めて重要な意義をもつが、その分子メカニズムについてはいまだに多くのことが未知である。本論文で使用された細胞性粘菌は、発生分化のモデル生物として多用されている単細胞生物で、実験室でのさまざまな分子生物学的操作に適した生物である。

本論文は細胞性粘菌の接合子形成に先立って融合細胞内で核数を調整する過程があるという事実を発見し、その過程への細胞内骨格系とそれを制御する遺伝子の関与を示唆している重要な論文である。細胞性粘菌の有性生殖機構に関する新規の知見であることに加え、広範な生物でみられる接合子形成に必要なプロセスとの質的類似性、細胞質分裂の制御の観点からも非常に興味深い内容であり、今後の発展が期待される。

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。