

論文審査の結果の要旨

氏名 沖田 紀子

生物がその生存に適した行動を行う仕組みの理解は、生物学の基本的課題の一つである。緑藻クラミドモナスは、光合成に適した光環境を選択するために光源の方向、あるいはその反対方向に向かって遊泳する性質がある。本論文はこの走光性発現機構の解明のために行われた研究について述べたものである。走光性発現における鞭毛打の調節機構に関しては、まだきわめて断片的な情報しか得られていない。本論文で述べられている研究では、鞭毛打調節の分子機構に迫るため、走光性異常突然変異株の表現形の詳細な解析と、走光性に関与する新遺伝子の同定が行われた。

本論文は二部から構成されている。第一部では、新たに単離された走光性異常変異株 *lsp1* の光行動を野生型株と既知の突然変異株と対比して解析した結果が述べられている。*lsp1* は走光性能力が低下した変異株として単離されたが、定量的解析により、そのことが裏付けられた。運動能と光受容電流の発生には異常は見られなかったため、この株の欠陥は鞭毛打の調節機構にあることが推察された。実際、界面活性剤で除膜した細胞の運動を ATP 存在下で再活性化させたところ、野生型細胞ではこれまでの報告どおり低濃度の Ca^{2+} によって二本の鞭毛打のバランスが変化したのに対し、*lsp1* ではそのような変化は全く見られなかった。したがって、この変異株は Ca^{2+} による 2 本の鞭毛打のバランス調節に異常があると結論された。

以上の結果は、そのような鞭毛打バランスの調節機構の異常があっても、走光性は完全には失われないことを意味している。一方、かつて単離された変異株 *ptx1* は、鞭毛バランス調節が欠如しているとともに、走光性を全く示さないと報告されており、*lsp1* の結果と矛盾する。そこで申請者は *ptx1* の走光性能力をあらためて詳細に解析したところ、この株も弱いながらも走光性を示すことを見いだした。更に、やはり走光性能力を喪失していると報告されている、内腕ダイニン f を欠失している *ida1* についても再検討が必要だと考え、同様に定量的検定を行ったところ、弱い走光性を示すことが判明した。したがって、細胞モデルにおける Ca^{2+} 依存的な鞭毛バランス調節現象や、ダイニン f は、それぞれ走光性発現に重要ではあるが必須ではないと結論される。これらの結果は、走光性発現経路がこれまで考えられていたより複雑であり、複数存在することを示すもので、この分野の研究にとってきわめて重要である。

また、この研究の過程で、野生型と *ida1* の細胞が光に向かう走性、すなわち正の走光性を示したのに対し、*lsp1* と *ptx1* では正と負の走光性を示す細胞が同時に現れた。除膜細胞で見られる Ca^{2+} 依存的鞭毛バランス調節現象は、走光性の正負を決定する機構にも関連した現象である可能性が考

えられる。申請者はこれらの結果を説明する、走光性発現機構のモデルを提案している。

第二部では、*Isp1*の変異の原因遺伝子の解析について述べられている。*Isp1*変異部位近傍のゲノム断片を含む45 kbpのクローンが得られていたが、本研究で申請者は、その遺伝子決定にむけて、変異の相補に必要な最小のゲノム断片を特定するための実験を行い、変異を相補するゲノム領域を6.5 kbpにまで狭めることに成功した。この全塩基配列を決定し、予測プログラムによる解析を行った結果、716のアミノ酸からなる新規蛋白質をコードする遺伝子一つが予測された。走光性関連で鞭毛打の調節に関与した遺伝子配列が同定されたのは、ダイニンfを除けば、これが初めてである。RT-PCR法によりこの遺伝子の発現が認められたが、全長のcDNAは得られなかったため、この遺伝子は非常に転写量が少ないと考えられた。

更に、近縁の生物についてサザン解析を行ったところ、群体性である*Volvox*では検出されなかったが、*Volvox*よりも系統的に離れている*Chlamydomonas moewusii*で存在が認められた。この遺伝子の有無は、単細胞性と群体性の存在様式の違いを反映している可能性もある。このことの検証は今後の課題である。

以上のように、本論文で述べられた研究は、ジーンタギング法で作成した突然変異体を用い、走光性の発現経路はこれまで考えられていた以上に複雑であることを示すとともに、走光性に関与した遺伝子をゲノムレベルで同定することに成功した。本論文は走光性研究の今後の方向について重要な示唆を与えるもので、博士課程としての十分な内容を持つものと認められる。また、本研究は論文提出者を含めて5人の共同研究であるが、論文提出者が主体となって行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、審査員全員一致で、申請者に博士〔理学〕の学位を授与できるものと認める。