

論文審査の結果の要旨

氏名 湯山育子

本論文の基本構成は、Abstract, General Introduction、Chapter 1, Chapter 2、および General Discussion の5部からなる。本論文の特色は、(1) High coverage expression profiling (HiCEP)法という新しい遺伝子発現解析の手法をサンゴに初めて適用することによりサンゴと褐虫藻の細胞内共生に関わる候補遺伝子を単離したこと、及び、(2) 共生により発現が増加する硫酸イオントランスポーターについて調べることにより細胞内共生における硫酸イオン輸送の重要性を初めて明らかにしたこと、にある。サンゴと褐虫藻の細胞内共生について遺伝子レベルでの報告例は少なく、その仕組みは未だ明らかではない。本研究により、サンゴと褐虫藻の共生関係を研究するうえで分子生物学的な手法が有用であることを、サンゴ研究者に広く認識させたといえる。

Chapter 1 では、クローン化した褐虫藻を共生させた稚サンゴと褐虫藻を持たない稚サンゴを用いて、HiCEP 法による遺伝子発現解析を行った。さらにリアルタイム PCR により、遺伝子発現の違いを確認した。その結果、HiCEP 法は極めて信頼性の高い方法であり、共生時に発現が変化する遺伝子を 25 種類同定した。その結果、脂質代謝に関わる遺伝子 (Lipase, Perilipin)、イオン輸送に関わる遺伝子 (Sulfate transporter, Na/K ATPase)、電子伝達系に関わる遺伝子 (NADH-Ubiquinon oxidoreductase) 等が同定され、これらの働きをもつ遺伝子が細胞内共生に関与する可能性が示された。

Chapter 2 では、サンゴの硫酸イオントランスポーターに注目してその機能について調べた。遺伝子の全長を用いた配列解析、特異的な抗体を用いた免疫組織学的解析、 $^{35}\text{SO}_4$ を用いたオートラジオグラフィーを行い、この分子が細胞内共生にどのように関与しているかを調べている。本研究により、硫酸イオントランスポーターは骨と腔腸の間の内胚葉細胞と粘液細胞に局在することが示された。さらに、サンゴの骨周辺の組織と外胚葉、褐虫藻の周辺に硫酸イオンとして取り込まれた ^{35}S が存在していることが確認された。トランスポーター遺伝子の発現が昼と夜で差があり、 ^{35}S の取り込みが光により促進されることから、硫酸イオンの輸送は褐虫藻の光合成により促進されていることが示唆された。以上の結果から、褐虫藻が細胞内共生することで硫酸イオンの輸送が促進され、粘液や骨格に含まれる硫黄化合物の合成が促進されると考えられる。そして、サンゴの硫黄化合物の合成には褐虫藻が重要であることが示された。このよう

に、本研究はサンゴと褐虫藻の細胞内共生について新しい知見を与えるものである。

なお、本論文の **Chapter 1、2** の研究はサンゴの採集などにおいて阿嘉島臨海研究所や琉球大学にお世話になったが、実験はほとんど全て論文提出者本人が行ったものであり、本論文の全ての研究において論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。