

# 論文審査の結果の要旨

氏名：豊島 正和

本論文は序文と結論のほか、2章からなる。全体として、糸状性シアノバクテリアのヘテロシスト形成に見られるパターン形成を扱った研究である。第1章では、ヘテロシスト形成過程を時間を追って観察・記録する新しい方法の記載と、それを用いて得られた結果について述べられている。第2章では、ヘテロシストとなる細胞の候補が早い時期に決まっているという新しい仮説が、その根拠となる実験とともに述べられている。

糸状性シアノバクテリアの一種である *Anabaena* sp. PCC 7120 は、培地中の窒素源がなくなると、約24時間で、ヘテロシストと呼ばれる特殊な細胞を分化させ、空中窒素の固定を行う。このとき、ヘテロシストは分裂せず、また、もとの栄養細胞に戻ることもないため、窒素固定条件で成長してゆくためには、つねに細胞集団のなかで適切なヘテロシストの比率を保つ必要がある。この比率は、ヘテロシストがほぼ等間隔で形成されるということに表れており、ヘテロシスト形成は、細胞分化に伴うパターン形成として、最も単純な系として、さまざまな研究が行われてきた。しかし、これまで主に注目されてきたのは、窒素飢餓処理開始後48時間程度以降の定常状態であり、この場合には、ヘテロシストが分泌する PatS ペプチドによるほかの細胞への分化抑制によって、約10細胞ごとの規則的なパターンの維持が説明されてきた。これに対し、最初に形成されるヘテロシストの位置に関しては特に知見がなく、ランダムに決まるものと推定されてきた。これに対し、本論文は、ヘテロシストの初期パターンの形成について詳しく研究したものである。

第1章では、窒素飢餓によりヘテロシスト分化が誘導される過程を経時的に観察する方法を考案した。通常のシャーレにいた寒天培地上で成長する細胞フィラメントを顕微鏡下でそのまま観察したのでは、培地の乾燥や光と温度条件を適切に維持することが難しいために正常な細胞分化が起きない。また一回に一つのフィラメントしか観察できない。実際の細胞増殖や分化は数時間かけてゆっくり起きるので、同じシャーレを4時間ごとに観察することにし、その間は通常の培養条件におくことにした。その上で、マイクログリッドをマーカーとすることにより、多数の細胞を繰り返し観察することができるようにした。単純なトリックであるが、これにより、従来不可能であった分化の最初をあとから確認することができるようになった。この方法を用いて、ヘテロシスト分化には、予め細胞分裂が起きなくてもよいことを証明した。これは、従来の分裂阻害剤を用いる方法で得られた結論を覆す重要な発見である。

第2章では、上記の経時観察手法を活用し、初期のヘテロシストが分化する時の規則性を解明した。分化誘導開始時の細胞には4細胞ごとの繰り返しがあり、4細胞の単位の両端の細胞またはそれらが分裂してできる細胞から、主に初期のヘテロシストができることを見いだした。さらに、ヘテロシスト分化のマスタースイッチ遺伝子である *hetR* 遺伝子の発現を *gfp* 融合遺伝子を用いて定量することにより、将来ヘテロシストになる細胞ではほかの細胞よりも *hetR* 遺伝子の発現がいち早く増加することを示した。従来知られていたことは、細胞集団全体としてみたときに *hetR* 遺伝子の発現が早期に高まることであったが、本研究はそれが将来ヘテロシストになる細胞に限局されていることを明らかにした。従来、ヘテロシスト分化が決定されるのは、窒素飢餓開始後約8時間後と考えられていたが、本研究の結果は、窒素飢餓開始直後あるいはそれ以前に、将来ヘテロシストになりうる細胞が選択されており、それらの細胞では、早期に *hetR* 遺伝子の発現が高まることを示した点で、初期ヘテロシストパターンの形成についての新たな知見 (early candidacy 仮説) を得たことが高く評価される。

なお、本論文第1章と第2章は一つの論文として *Archives of Microbiology* 誌にオンライン掲載され、佐々木直文、藤原誠、得平茂樹、大森正之、佐藤直樹との共著であるが、論文提出者が主体となって実験、解析を行ったもので、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。