

論文審査の結果の要旨

氏名 濱地 貴志

本論文は5章からなり、第1章は、イントロダクションであり、第2章はゴニウム(*Gonium pectorale*)のマイナス交配型特異的遺伝子 *MID* と *MTD1* の同定、第3章は交配型別 BAC ライブラリの構築と前章で明らかになった交配型特異的遺伝子をプローブに用いた性決定遺伝子領域 (mating-type locus [MT])の探索とゲノム解読、第4章は両性の MT 上にコードされた交配型非特異的遺伝子の分子進化、第5章は総合的な議論が述べられている。

群体性ボルボックス目は雌雄の性が未分化な同型配偶から雌雄性をもつ卵生殖への進化を遺伝子レベルで探る「モデル系統群」であり、近縁な単細胞性同型配偶のクラミドモナス(*Chlamydomonas reinhardtii*)では、両性の遺伝子組成と配列が異なる MT が知られていた。しかし、雌雄性をもつ群体性ボルボックス目で MT がどのようになっているかは最近まで明らかではなかった。2006 年になって、群体性ボルボックス目の異型配偶 *Pleodorina starrii* で雄株から *MID* オーソログが同定され、2010 年には卵生殖ボルボックス(*Volvox carteri*)の *MID* オーソログの同定と周辺ゲノム領域解読が実施された。その結果、ボルボックスの雌雄の MT はクラミドモナス約 5 倍の大きさであり、交配型特異的遺伝子の数は増大し、交配型非特異的な遺伝子群も雌雄で両極化していることが明らかになった。しかし、両生物間の MT の差異が直接的に雌雄の二極化に影響したかを検証するには、ボルボックスにより近縁な同型配偶の群体性ボルボックス目の知見が必須であると考えられた。

従って、本研究では群体性ボルボックス目の同型配偶ゴニウムの MT の探索とゲノム解読を実施した。第2章では縮重プライマー法によって、ゴニウムの *MID* 配列(*GpMID*)を探索した。更に、得られた *GpMID* ゲノム DNA 配列を起点とした inverse PCR から、クラミドモナスのマイナス交配型特異的遺伝子 *MTD1* (*CrMTD1*) に相同性の高い配列 *GpMTD1* を得た。*GpMID* と *GpMTD1* は共にマイナス交配型株のゲノム特異的にシングルコピーでコードされていた。第3章では、ゴニウムの交

配型別 BAC ライブラリの構築と前章で得られたマイナス交配型特異的遺伝子をプローブに用いたマイナス交配型 MT を含む BAC クローンのスクリーニングとショットガンシーケンスによる配列決定を行い、これを端としたクロモソーマルウォーキング法によって隣接する領域を有するクローンを順次決定した。更に見出されたクラミドモナスの交配型非特異的遺伝子に類似の配列から、プラス交配型 MT を探索するプローブを作成し、同様にクロモソーマルウォーキングを遂行した。その結果、ゴニウムの両性で構造が大きく異なる MT 領域が少なくとも 400 kb に亘り、クラミドモナス MT (200~300 kb) よりも明らかに拡大しており、*MAT3* 等の 12 個の両性の MT にコードされた交配型非特異的遺伝子の存在が判明した。また、プラス交配型の MT 中にクラミドモナスのプラス交配型特異的遺伝子 *FUS1* (*CrFUS1*) 類似配列 *GpFUS1* が見出された。第 4 章では、ゴニウム MT 上にコードされた交配型非特異的遺伝子の分子進化の解析であり、ゴニウム MT における *MAT3* 等の交配型非特異的遺伝子群の同義・非同義置換率はクラミドモナスと同様にボルボックスのものより著しく低い値を示した。*MAT3* 部分配列を用いた系統解析の結果、同型配偶のゴニウムとの分岐以降、雌雄性を獲得した卵生殖のボルボックスの系統で *MAT3* の交配型(雌雄)特異性が高まったことが示唆された。

以上のように論文提出者は本論文において、重要であると議論されながら、これまで性決定遺伝子領域や性特異的遺伝子がまったく不明であった群体性ボルボックス目の同型配偶ゴニウムに着目して、独自に性特異的遺伝子を探索し、両性の BAC ライブラリを構築して進化生物学的解析を実施した。その結果、同型配偶から卵生殖に至る雌雄性の進化過程の直前で MT が拡大されるが、MT の交配型非特異的遺伝子群は両性で未分化であるという、雌雄性進化の前段階的なゲノム構造をはじめて示すことができ、極めてオリジナリティーの高い研究成果となった。

なお、本論文第 2 章の一部は Parick J. Ferris・Annette W. Coleman・Sabine Waffenschmidt・高橋文雄・西井一郎・野崎久義との共同研究であるが、論文提出者が主体となって観察及び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。