

論文内容の要旨

有性生殖は、異なる性を持つ個体のそれぞれが減数分裂を経て単相の核を作り、これらを混合し、1つの細胞内で複相の核を形成する生殖方法である。これにより新しい遺伝子組成を持つ個体を種内に増加させ、遺伝的多様性を生み出している。一般に、有性生殖は同じ性の個体同士ではなく、同種内の異なる性の個体との間でだけ成立する。このことは、配偶子には異なる性を認識する機能が備わっていなければならないことを意味する。

有性生殖は多くの単細胞生物でも報告されている。その中に繊毛虫であるゾウリムシ

(*Paramecium caudatum*) も含まれる。ゾウリムシは栄養源となる細菌が枯渇すると、交配反応活性が発現して、有性生殖である接合を行う準備が完了する。交配反応活性が発現した接合型EタイプとOタイプのゾウリムシが接触すると、腹側に生えている繊毛を用いて接着し、交配反応を開始する。交配反応後は、接合対が形成され、減数分裂を経た配偶核を交換し、新たな遺伝子組成を持つ子孫を生み出す。

交配反応は相補的な接合型間でしか起こらない非常に特異性の高い反応である。ゾウリムシは繊毛を介して相手の接合型を識別し、相手が相補的な接合型の場合には、繊毛同士の接着を継続して、接合過程に入る、と考えられる。

生化学的知見から交配反応において細胞表面で交配反応を仲介するような分子または構造としてメッツは1946年に接合型物質を提唱した。そして、現在までに、交配反応は腹側の繊毛を介して起こること、繊毛膜内在性タンパク質が関与すること、などが明らかにされた。しかし、接合型物質に相当する分子や交配反応に関わる繊毛膜タンパク質分子はまだ同定されていない。そこで、交配反応に必要な繊毛タンパク質の同定を本研究の目的とした。

本研究では、交配反応の開始に必要な物質の同定を目的として、分子生物学的手法と細胞組織学的手法を用いて解析を行い、新規の遺伝子によりコードされる繊毛膜タンパク質を同定し、Pc-MSP (*Paramecium caudatum* mating reactive specific protein : ゾウリムシ交配反応活性特異的タンパク質) と名付けた。Pc-MSPに関する主な知見は以下の通りである。

1. Pc-MSP遺伝子は5'側にキナーゼC様ドメインを持ち、3'側に4個のカルシウムイオン結合領域であるEFハンドモチーフを持つ、新規の遺伝子である。
2. Pc-MSP遺伝子は、O3タイプ (シンジェン3に属する接合型Oタイプ) とE3タイプ (シンジェン3に属する接合型Eタイプ) の間で、エキソンに8ヶ所、イントロンに1ヶ所の一塩基置換が生じている。DNA塩基配列から推定したアミノ酸配列においては接合型間で違いは無い。
3. Pc-MSPは交配反応活性を発現したO3タイプの腹側の繊毛に特異的に存在するが、E3タイプの腹側の繊毛からは検出されない。
4. Pc-MSPは交配反応が開始して45分後の接合対形成期 (保持結合期) では消失する。
5. Pc-MSP遺伝子発現のノックダウン処理は、交配反応活性の発現を抑制する。ノックダウン処理によって、腹側繊毛へのPc-MSPの局在も見られなくなる。

6. Pc-MSPノックダウン効果から回復した細胞では、交配反応活性の発現も回復する。この時、腹側繊毛へのPc-MSPの局在も再び見られるようになる。

これらの結果から、Pc-MSPはO3タイプのゾウリムシにおいて、交配反応開始に必要な繊毛膜タンパク質であり、腹側の繊毛に局在することが重要であることが明らかとなった。