

論文審査結果の要旨

本研究は、ゾウリムシの有性生殖過程で最初に起こる交配反応で、相補的接合型を識別し、性的細胞接着を誘導するタンパク分子を同定し、その遺伝子の内部構造を解明したものである。

ゾウリムシ属の接合現象は、1937年に、アメリカ・インディアナ大学、T. M. ソネボーンによって発見された。その後、今日に至るまでに、多くの研究者が接合過程について研究を重ね、膨大な量の知見を積み上げてきたが、交配反応の開始時に働く性的認識に関わる物質に関しては、依然として謎に包まれたままであった。この物質は、1946年に C. メッツによって「接合型物質」として提案されたものである。

千葉は、有性生殖の重要性に興味を持ち、種内の遺伝的多様性の創造と種の分化のプロセスを研究する上で、ゾウリムシ属の接合型システムは優れた利点を持つと考えた。有性生殖は、配偶子形成の段階で減数分裂を行う。減数分裂では、まず、相同染色体間での組換えにより各染色体上で遺伝的多様性が生じる。次に、相同染色体はそれぞれランダムに配偶子に分配されるため、配偶子ゲノムを構成する染色体の組み合わせにおいて遺伝的多様性が生じる。

さらに、性の異なる2つの個体（多細胞動物の場合は雄と雌、ゾウリムシの場合には接合型 O タイプと E タイプ）から作られた配偶子はランダムに結合して接合子（ゾウリムシの場合は受精核）を形成するため、子孫集団は、遺伝子組成において多様性に富む個体で構成されることになる。千葉は、配偶子間で行われる受精と相同の現象である、交配反応に研究の焦点を当てて、接合型物質の解明を目指した。

千葉の研究方法は、タンパク化学による候補ペプチドの選定に始まり、抗体の作製と遺伝子クローニング法の併用により候補ペプチドと遺伝子の確定を行い、細胞組織学的方法により細胞内局在性の検証を行って、O タイプの接合型物質を担う候補タンパクを同定した（Pc-MSP: *Paramecium caudatum* mating reactivity specific protein）。次に、摂餌 RNA 干渉法を用いて、交配反応の発現と Pc-MSP の局在性との相関を定量的に評価し、Pc-MSP が相補的接合型を識別して交配反応を誘導する機能を持つことを証明した。

本研究の最も重要な成果は、O タイプのゾウリムシで交配反応が発現するためには、Pc-MSP（分子量約 52 kDa、489 アミノ酸）が細胞体の所定の位置に生えている繊毛に局在することが必要であることを証明した点である。また、Pc-MSP 遺伝子（1,620 塩基）の内部構造を解析して、5'末端側に、タンパク質をリン酸化する酵素（キナーゼ C 様タンパク）のドメインと相同性の高い配列を特定し、また、3'末端側に、カルシウムイオンと結合してカルシウムシグナル伝達に寄与する EF ハンドモチーフと相同性の高い配列を特定した点も、将来、他の生物とゾウリムシの接合型システムとの進化的関係を考察する上で重要である。

本研究の成果は、今後、原核生物から真核生物まで生物界で広く行われている有性生殖の開始機構を解明する上で、重要な役割を担っているタンパク分子とその遺伝子に関する情報を提供するものである。Pc-MSP が接合型物質本体か、または接合型物質複合体の一部を構成する分子であるかを明らかにするためには、接合型物質の定義上、E タイプの接合型物質を同定し、この物質と直接結合することを証明する必要がある。この研究は、相補的接合型の起源と生殖的隔離の成立過程を、理論と実験の両面から検証できる可能性を示唆している。

以上、千葉祐太の学位請求論文は取り組んだ研究テーマの重要性と明らかにされた知見の新規性など鑑み、本学理工学研究科生命環境科学専攻の博士（理学）の学位論文として合格と認める。