

学 位 審 査 報 告 書

(ふりがな) 氏 名	(むとう こうへい) 武藤 耕平
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 号
学位授与の日付	平成 年 月 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 ・ 専 攻	理学研究科 生物科学専攻
(学位論文題目)	モリアオガエル精子の形成過程及び運動機構に関する研究
論 文 調 査 委 員	(主査) 久保田洋 准教授 疋田 努 教授 曾田貞滋 教授

(続紙 1)

京都大 学	博士 (理学)	氏 名	武藤 耕平
論文題 目	モリアオガエル精子の形成過程及び運動機構に関する研究		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>日本固有の両生類であるモリアオガエル (<i>Rhacophorus arboreus</i>) は泡巣という非常に粘性の高い環境で受精することが知られている。モリアオガエルの精子は特徴的なコルク抜き形の頭部と頭部の長軸に対して垂直方向に伸長する太い尾を持つ。尾の中には2本の軸糸が数百本の微小管結晶に囲まれた状態で存在する。このような精子の形態は泡巣中で受精するアオガエル科でのみ知られていることから、泡巣という非常に粘性の高い環境に適応した形態であると考えられる。特徴的な形態を持つモリアオガエル精子の運動機構及び形成過程は十分に理解されていないため、申請者はそれらの解明を試みた。</p> <p>第一部では、精子の運動機構の解析を行っている。モリアオガエルの精子は、低粘性溶液中においては尾部の巻き付き運動と解け運動を繰り返すが、前進運動を行うことができなかった。一方で、泡巣や高粘性溶液中においては、まるでコルク抜きがコルク中に進入するように頭部を反時計方向に回転させながら直進した。これらの実験結果を詳細に解析することにより、モリアオガエルの精子は周囲環境の高い粘性を利用することで、尾部の巻き付きと解けの運動を効果的にコルク抜き形頭部の回転運動へと変換して前進する運動機構を持つことが明らかにされた。また、精子尾部中の周囲微小管中に観察される結晶構造のズレの位置は、ウニの精子やクラミドモナスの鞭毛で明らかにされている軸糸ダイニンの作動位置と一致することから、軸糸中で活性化されるダイニンの位置を反映していることが示唆された。さらに、ダブレット2及び6に結合しているダイニンが尾部の基部から先端に向かって交互に活性化することで、尾部の巻き付き (屈曲) と解け (伸長) を引き起こしていることが示唆された。これらの結果から、モリアオガエルの精子は泡巣という高粘性環境に高度に適応した今までに知られていない新たな精子運動機構を持つことが明らかにされた。</p> <p>第二部では、精子形成過程を電子顕微鏡を用いて詳細に観察している。繁殖期 (5 - 7 月) における泡巣は精子形成を一時停止していたが、室内飼育したモリアオガエルは繁殖期終了の約2カ月後 (9 月下旬) に精子形成を再開し、その後の約2ヶ月間 (11 月下旬まで) で成熟した精子を形成した。精細胞から精子への形態形成過程である精子変態過程 (spermiogenesis) は3つの変態段階に分類することができた。前期精細胞期においては、精細胞は球形の核を持ち、2本の鞭毛を平行に伸長させていた。鞭毛基部の2つの中心小体は中心子付属体に囲まれた状態で核に接着し、細胞質の大部分は2本の鞭毛をマンツルのように取り囲んだ。中期精細胞期になると、精細胞は核を前後軸に沿って伸長させた。2本の鞭毛はそれぞれの鞭毛の細胞膜が鞭毛基部から鞭毛先端部へと伸長することによってマンツル様細胞質に統合された。この鞭毛統合によって、精細胞は2本の軸糸を含む1本の鞭毛を持つ細胞へと変態した。後期精細胞期において、精細胞頭部はその形態を大きく湾曲させ、コイル形を経てコルク抜き形へと変態した。頭部の延長上に存在する尾部は頭部の螺旋化に伴い、徐々に頭部の長軸に対して垂直方向へと伸長方向を変化させた。さらに、尾部中に存在する周囲微小管は互いに架橋構造を形成して側面で連結することで微小管列を形成した後、列が側面で結合して結晶構造を形成した。これらの結果から、高い粘性環境中での受精に適応した特異な形態をもつモリアオガエル精子の形成過程が明らかにされた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

動物の受精は、海水や淡水中での体外受精から体内受精まで、種により様々な環境で行われる。そのため、精子の形態や運動も受精環境の多様性に合わせて多様であることが知られている。申請者は、泡巢中で受精しコルク抜き形の頭部と頭部の長軸から垂直方向に伸びだす太い尾からなる特異な形態をもつことが知られているモリアオガエル (*Rhacophorus arboreus*) の精子の運動メカニズムと形成過程を調べた。

第一部は、精子の運動機構に関する研究である。京都近郊ではモリアオガエルが多数生息し、産卵直前のモリアオガエルを多数捕獲できるという地の利を活かして、泡巢中での精子の運動の観察に初めて成功した。従来知られていた単純な塩類溶液中の運動とは異なる実際に受精が行われる環境下での運動をデジタルレコーダーに記録し、その運動を詳細に解析した。さらに、人工的に粘性を高めた溶液中でも、泡巢中と同様の運動を再現できることを示すことにより、高い粘性環境に適応した今までに知られていない精子の運動機構を発見した。この運動機構は、精子の進行方向とは垂直方向に伸びる尾の巻き付きと解けの運動がコルク抜き形の精子頭部を反時計方向にスピンさせ、回転する頭部は泡巢の高い粘性環境の中をコルク抜きがコルク中に入り込むように直進するというものである。これは、尾の運動が精子の前進に直接関与するのではなく、頭部を回転させるためにもっぱら役立っているという意味でユニークな細胞運動機構である。この発見は細胞運動に新たな機構を追加するものであり、その業績は高く評価できる。

第二部は、粘性環境に適応した特異な形態の精子がどのようにできるのかを精子形成過程を電子顕微鏡で詳細に観察することにより明らかにしたものである。コルク抜き形の精子頭部は、まず核が棒状に伸び、次に鎌形に変形し、さらにコルク抜き形に変化することにより形成されることを明らかにした。その過程で棒状の核の長軸に対して斜めに配置する先体が核のコイリングに役割を果たしている可能性を示唆した。精子尾部に含まれる2本の軸糸の形成については、まず1本の軸糸をもつ2本の鞭毛が別々に伸びだし、次いでそれらがマンデル様細胞質に包まれ、さらにそれぞれの鞭毛を取り囲む細胞膜が尾部先端に向かって広がることにより2本の鞭毛がマンデル様細胞質中に取り込まれて、2本の軸糸を含む1本の鞭毛が形成されることを明らかにした。尾部の微小管結晶構造の形成については、マンデル様細胞質中で数を増した微小管がまず側面で一列に結合してシートを形成し、次いでそれらが重なるように結合して結晶構造ができあがることを明らかにした。アオガエル科の精子の形態は受精環境の多様性に対応して種により多様であり、棒状の頭部をもち軸糸が1本の精子、鎌状の頭部をもち軸糸が2本の精子、そしてコルク抜き形の頭部をもち軸糸が2本の精子をもつものがある。今回の精子形成過程の形態学的な研究は、モリアオガエルの精子の形成過程がアオガエル科における精子の形態進化を反映していることを示唆するものである。

以上から、申請論文は、細胞運動に新たな機構を追加するのみならず、精子の形態と運動様式の進化を解明する上でも重要な成果であり、高く評価できる。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また平成23年1月12日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。