

氏名	し　みず　とし　のぶ 清　水　俊　敦
学位(専攻分野)	博　士　(理　学)
学位記番号	理　博　第 2480 号
学位授与の日付	平成 14 年 3 月 25 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　化　学　専　攻
学位論文題目	群体性緑藻類ボルボックスの老化関連遺伝子の解析

(主 査)
論文調査委員 教授 伊藤 維昭 教授 三木 邦夫 助教授 樋口 芳樹

論 文 内 容 の 要 旨

緑藻類の一種であるボルボックスは細胞老化の研究対象としての利点を備えている。ボルボックスは多細胞体制および細胞分化のモデルとして有用であり、有限寿命の体細胞もその過程で出現したものである。このことからボルボックス目を用いて細胞老化を研究することは、細胞老化のメカニズムを解明するためだけでなく、老化現象の起源を考える上で新しい知見をもたらすことが期待される。

植物細胞の老化 (senescence) は、細胞が一定の期間その機能を果たした後に機能の低下を起こすことを言い、最終的には個体からの脱落や細胞死に至る。老化の過程は一般に細胞内容物に対する分解酵素等の新合成を伴っており、遺伝情報に差次的発現を必要とする。ボルボックスの体細胞老化過程に関しては、老化に伴うタンパク質合成パターンの変化、体細胞の細胞構造の変化、薬剤による体細胞の寿命の変化についての研究がなされていた。しかし、ボルボックスの体細胞老化に関しては、その過程にどのような遺伝子が関与しているかという知見は得られていなかった。

申請者は、老化に伴い発現が上昇するさまざまな遺伝子 (老化関連遺伝子) のクローニングを試みこれに成功した。まず老化体細胞において光合成能の低下が起きていることを確認し、また、細胞の RNA 含有量に関してもこれと同時に低下していることを明らかにした。これらの知見に基づき、ボルボックス *forma nagariensis* の分裂停止後72時間目の体細胞 (72h 体細胞) を老化体細胞として研究に用いた。

申請者は2つの手法によりクローニングを行った。1つは、他の生物種ですでに知られている老化関連遺伝子の相同遺伝子をボルボックスにおいてクローニングし、その発現、機能を調べる方法である。この研究では、ボルボックス S-like RNase のクローニングを行い、これが老化体細胞において発現が上昇することを確認した。具体的には S-like RNase, VRN1 をクローニングし、その発現量が老化体細胞において最大になることを明らかにした。緑藻においてクローニングされた S-like RNase は VRN1 が初めてである。高等植物でも老化に関連した S-like RNase が知られており、この結果は VRN1 の発現制御が高等植物における S-like RNase の発現制御と共通性を持つことを示している。

もう1つは、Differential Display 法を用いての老化体細胞において発現が上昇する遺伝子のクローニングであり、細胞の防御反応に関与する遺伝子やマトリックスタンパク質分解酵素の遺伝子といった高等植物の老化関連遺伝子に相同性のある遺伝子を得た。具体的には、この研究で LSG1, LSG2 および S9 という体細胞後期発現型の extensin family 遺伝子が存在することを示した。これら3つの mRNA は、すべての細胞が等価であり、ボルボックスの祖先型生物種に相当すると考えられている、完全な細胞分化を示さない Gls/Reg 変異体においては発現していない。このことから得られた mRNA は最終分化した体細胞の後期に特異的な役割を担っていると考えられる。

以上、申請者は、高等植物で知られている老化関連遺伝子と共通の遺伝子群が、緑藻類に属するボルボックスの体細胞老化に伴い発現の上昇を示すことを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

緑藻植物 *Volvox carteri* は原生生物界緑藻植物門緑藻綱ボルボックス目に属する生物種である。クラミドモナス目に属する生物種のうち最も系統的にボルボックス目と近縁の *Chlamydomonas reinhardtii* とボルボックス目が共通の祖先から分岐したのは約3500万年前と推定されており、このように短期間のうちに単細胞生物から多細胞生物へと進化を遂げた生物群は他に例を見ない。

ボルボックスは細胞老化の研究対象としての利点を備えている。ボルボックス目は多細胞体制および細胞分化のモデルとして有用であり、有限寿命の体細胞もその過程で出現したものであるから、ボルボックス目を用いて細胞老化を研究することは、細胞老化のメカニズムを解明するためだけでなく、老化現象の起源を考える上でも新しい知見をもたらすことが期待される。

ボルボックスの体細胞老化に関しては、その過程にどのような遺伝子が関与しているかという知見は得られていなかった。そこで申請者は、老化に伴い発現が上昇するさまざまな遺伝子（老化関連遺伝子）のクローニングを試みこれに成功した。今後、得られた遺伝子の発現および機能を解析することにより体細胞の老化過程がどのように制御されているか明らかになることが期待される。

申請者は2つの手法によりクローニングを行った。1つは、他の生物種ですでに知られている老化関連遺伝子の相同遺伝子をボルボックスにおいてクローニングし、その発現、機能を調べるという方法である。この研究では、ボルボックス S-like RNase のクローニングを行い、老化体細胞において発現が上昇することを確認した。もう1つは、Differential Display 法を用いての老化体細胞において発現が上昇する遺伝子のクローニングであり、細胞の防御反応に関与する遺伝子やマトリックスタンパク質分解酵素の遺伝子といった高等植物の老化関連遺伝子に相同性のある遺伝子を得た。以上の結果、申請者は、高等植物で知られている老化関連遺伝子と共通の遺伝子群が、緑藻類に属するボルボックスの体細胞老化に伴い発現の上昇を示すことが明らかになった。

これらの結果は、ボルボックスの老化関連遺伝子には陸上植物と共通のものがあることから、同様の出来事が陸上植物にいたる進化の過程においても起きた可能性があり、ボルボックスは緑藻のみならず陸上植物の老化現象の進化を考える上でも有用なモデルとなりうることを明らかにした。具体的には緑藻類に属するボルボックスと陸上植物との間で老化関連遺伝子に共通性が存在することを証明することにより、これまで陸上植物の葉の老化とボルボックスの体細胞老化との形態上の類似点が存在することはわかっていたが、老化関連遺伝子の共通性に関する知見を初めて得たことになる。

以上のことから、この申請論文は当該分野の研究の進展に寄与し、博士（理学）の学位論文として価値あるものと判定した。なお申請論文に報告されている研究業績を中心として、これに関する研究分野について試問し、合格と認めた。