

氏 名	狩 野 俊 吾
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2327 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 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	カタユウレイボヤ系統作製のための遺伝的多型の研究 (Studies of genetic polymorphisms in <i>Ciona intestinalis</i> for establishment of laboratory strains)
論文調査委員	(主 査) 教 授 佐 藤 矩 行 教 授 米 井 脩 治 教 授 山 岸 哲

論 文 内 容 の 要 旨

ホヤは脊索動物門の中で系統学上低次に位置し、幼生は脊索を持ち、また変態した成体はユニークな形態をもつことから、進化と体制の獲得との関連性を考察する上で重要な動物である。近年、ホヤの一種で標準モデル動物化が期待されているカタユウレイボヤ *Ciona intestinalis* を用いた発生遺伝学的アプローチが始まりつつあるが、「系統」が存在していないため遺伝的に厳密な議論が出来ないでいる。

そこで、カタユウレイボヤにおける系統作製を目的として、汎用性の高い RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) マーカーを多型的遺伝的マーカーとして用いて、まずこの種における遺伝的背景を調査した。種内変異に先立ち種間変異を調べたところ、18S rDNA による系統解析で混乱を生じていたカタユウレイボヤと近縁種ユウレイボヤはゲノミックフィンガープリントで識別が可能であり、系統学的にも別種であることが示された。交雑発生の結果や種特異的に検出される *Brachyury* 遺伝子の *in situ* ハイブリダイゼーションの結果もこれを支持し、両種における遺伝子プールの相違が改めて確認された。

次に7つの日本産カタユウレイボヤの地域集団間の遺伝的相違を調べたところ、遺伝的距離は小さいものの、地域集団毎に遺伝的に識別できることが判明した。この情報をもとに自家交配による近交系の作製を試みたところ、F₄ 世代の個体間の遺伝的類似性は野生集団の遺伝的類似性よりも有意に高くなったが、近交弱勢のせいこの集団は F₅ 世代で途絶えた。

さらに調査した野生集団中もっとも遺伝的距離の大きい2集団由来の野生個体を用いて、F₂ self-cross による交配パネルより59の RAPD 遺伝子座に関する遺伝地図の作製を行なったところ、1608cM に相当する19の遺伝子群が得られた。本研究は、実際の遺伝学的アプローチを考慮しつつ、系統作製を目的にホヤの多型を解明した初めての研究であり、その成果は今後のホヤ遺伝学の展開の基礎をなすものである。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年の発生遺伝子の知見の多くは、ショウジョウバエや *C. elegans* を利用した突然変異体の作製とその原因遺伝子の単離・解析をととした発生遺伝学的解析によってもたらされたものであり、この研究方法はますます力強さを増している。ウニ・カエル・ホヤなどの動物は古くから発生生物学の実験材料としてよく使われてきているが、発生遺伝学的展開ができない弱点をもつ。しかし世界の沿岸域に広く分布するカタユウレイボヤ *Ciona intestinalis* は、世代時間が約3カ月と短いこと、雌雄同体でかつ自家受精が可能なこと、室内での継代飼育も可能なことなど、今後の発生遺伝学的展開が期待でき、実際すでに突然変異体の作製も始まりつつある。しかし「系統」を初めとした遺伝的バックグラウンドの整備がほとんどなされていない。

そこで、申請者はカタユウレイボヤにおける系統作製を目的として、RAPD マーカーを多型的遺伝的マーカーとして用いて、まずカタユウレイボヤと近縁種ユウレイボヤ *C. savignyi* の種としての遺伝的背景を調査した。その結果、両種はゲ

ノミックフィンガープリントで識別が可能であり、系統学的にも別種であることが示された。また交雑発生の結果もこれを支持し、両種における遺伝子プールの相違が改めて確認された。次にカタユウレイボヤの地域集団間の遺伝的相違を国内7カ所で調べ、遺伝的距離は小さいものの地域集団毎に遺伝的に識別できることを明らかにした。さらにこの情報をもとに自家交配による近交系の作製を試みたところ、 F_4 世代の個体間の遺伝的類似性は野生集団の遺伝的類似性よりも有意に高くなり、今後の純系作製の道を開いた。また調査した野生集団中最も遺伝的距離の大きい集団由来の野生個体を用いて F_2 self-cross による交配パネルによって59の RAPD 遺伝子座に関する遺伝地図の作製を行なったところ、1608cM に相当する19の遺伝子群が得られた。

世界的に見てもホヤの発生生物学研究者の数は少ない。この動物の研究材料としての遺伝的バックグラウンドの整備が常に指摘されてきたが、実際にこの研究に取り組むものはいなかった。申請者は将来の発生遺伝学の展開を見越し、カタユウレイボヤの遺伝的多型の研究に正面から取り組み、上記のような研究成果をあげた。この申請者のチャレンジ精神は評価されて良いものと思われる。研究は現在も展開中であり今後の研究成果も期待できる。

申請者は、本研究に関してすでに国際誌への論文の公表もおこなっており、また自身の研究の位置づけも十分なされていると判断された。本研究の学問上の意義は大きいと同時に、申請者の学術研究に対する熱意と能力の高さが推察できた。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文に値するものと認められた。なお、添付論文に報告されている研究業績を中心に、関連分野に関する試問を行なった結果、適切な回答が得られたので合格と認定した。