

氏名	村田幸男
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	理 学
学位授与番号	博甲第 2061 号
学位授与の日付	平成 12 年 3 月 25 日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	Genetic and Molecular Analyses of Sexual Morphogenesis in <i>Coprinus cinereus</i> (ウシグソヒトヨタケにおける性形態形成の 遺伝学的及び分子生物学的解析)
論文審査委員	教授 鎌田 堯 教授 榎本雅敏 教授 香川弘昭

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

真正担子菌ウシグソヒトヨタケにおける交配型遺伝子Aは、ホメオドメイン転写因子をコードしており、二核菌糸における2核の共役分裂とクランプ形成を支配している。A遺伝子の働きかけに関係なくクランプ形成を行うようになった一核性の突然変異 *pseudoclamp connection* (*pcc1*) の原因遺伝子をコスミドライブラリーより、遺伝子活性に基づいてクローニングした。*pcc1*遺伝子は、561個のアミノ酸残基からなるタンパク質(Pcc1)をコードしていた。Pcc1タンパク質は、N末側にSRYタイプのHMGボックスを有する転写因子であり、そのHMGボックスは子囊菌の交配型遺伝子や異型担子菌 *Ustilago maydis* のフェロモンレスポンスファクター等のもとの高い類似性を示した。また、*pcc1-1*変異遺伝子の塩基配列を野生型のものと比較した結果、211番目のセリン残基のコードがナンセンス変異していることがわかった。次に、クランプ形成を行う *pcc1*変異株を新たに8株分離し、それらの変異部位を調査した。各々の変異株は *pcc1*遺伝子内に様々な塩基の置換、欠失、付加を持ち、その中の1つ(*pcc1-4*)では、HMGボックスを含むPcc1ペプチドの大部分を欠失させるナンセンス変異が起こっていた。*pcc1-4*変異が *loss of function* でありながらクランプ形成を誘導することから、Pcc1タンパク質はクランプ形成過程のリプレッサーであると仮定した。この仮定に基づき、サブトラクション法を用いて、*pcc1*の下流で働く遺伝子の検索を試みた。その結果、*pcc1-4*変異によって転写が増大する9つのクローンが得られた。これらのクローンについて塩基配列を調べ、データベースを検索したところ、2種の *hydrophobin*, *serine proteinase*, そして *CDP-diacylglycerol synthase* にそれぞれ高い類似性を示すタンパク質をコードする4個の遺伝子が見つかり、これらの遺伝子が *pcc1*の下流で働いていることが示唆された。

論文審査結果の要旨

本研究は、真正担子菌ウシグソヒトヨタケ (*Coprinus cinereus*) の性形態形成を遺伝学的及び分子生物学的に解析したものである。

まず、交配型遺伝子 *A* の制御下にあることが知られている性形態形成、つまり偽クランプ (pseudoclamp connection) の形成を *A* 遺伝子の働きかけに関わりなく行うようになった一核性の突然変異体を用い、この変異を相補する DNA 断片として *pcc1* (pseudoclamp connection) 遺伝子をクローニングした。*pcc1* 遺伝子は、561 個のアミノ酸残基からなるタンパク質(Pcc1)をコードしていた。Pcc1 タンパク質は、N 末側に SRY 型の HMG ボックスを有する転写因子であり、その HMG ボックスは子囊菌の交配型遺伝子などのものと高い類似性があることを示した。また、変異対立遺伝子 (*pcc1-1*) は、211 番目のセリン残基のコドンがナンセンス変異していることを明らかにした。

次に、*A* 遺伝子の働きかけに関わりなく偽クランプの形成を行う一核性の変異体を新たに 8 株分離し、それらの変異部位を調査した。各々の変異株は *pcc1* 遺伝子内に様々な塩基の置換、欠失、付加を持ち、その中の一つ (*pcc1-4*) では、HMG ボックスを含む Pcc1 ペプチドの大部分を欠失させるナンセンス変異が起こっていることを見出した。*pcc1* 遺伝子が、*A* 遺伝子の働きかけがなくクランプを形成しない野生型一核菌糸で発現していること、そして Pcc1 の機能を失わせると考えられる *pcc1-4* 変異が偽クランプ形成を誘導するという事実等から、Pcc1 がクランプ形成過程のリプレッサーであると仮定した。

さらに、サブトラクション法により *pcc1* の下流で働く遺伝子の検索を行い、*pcc1-4* 変異により転写が増大する 9 つの遺伝子あるいは遺伝子断片を同定した。

上記の研究成果は、これまで不明であった真正担子菌における交配型遺伝子 *A* の下流を解明するための重要な糸口を与えるものとして高く評価される。従って、本論文は学位論文に値するものと判定する。