

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲 第	号
------	---	-----	---

氏 名 浦川 直希

論 文 題 目 真正粘菌を用いた同形配偶子におけるミトコンドリア  
母性遺伝の制御機構の解析

### 論文審査担当者

主 査 名古屋大学大学院理学研究科 准教授 博士(理学) 佐々木 成江  
委 員 名古屋大学大学院理学研究科 教 授 博士(理学) 五島 剛太  
委 員 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所  
教 授 博士(理学) 東山 哲也

## 論文審査の結果の要旨

有性生殖を行う真核生物において、ミトコンドリア DNA (mtDNA) は母性遺伝することが知られている。近年、父方の mtDNA やミトコンドリアの選択的分解が母性遺伝の制御において重要であることが分かってきた。配偶子間でミトコンドリアの数や mtDNA 量に差がみられない同形配偶子では、接合後にまず、父方由来の mtDNA の選択的分解が生じ、その後ミトコンドリアの分解が生じる。そのため、mtDNA 分解は母性遺伝の引き金となる重要なステップであると考えられるが、その分子メカニズムはよく分かっていない。

申請者は、同形配偶子をもつ真正粘菌を用いて母性遺伝過程におけるミトコンドリアとミトコンドリア核様体 (mt 核様体 : mtDNA-タンパク質複合体) の動態を詳細に解析し、さらに父方 mtDNA の分解が生じる時期のみに活性化される DNase の性質を、単離ミトコンドリアを用いた semi-in vitro アッセイ法で調べた。真正粘菌の mt 核様体は棒状で 1-2  $\mu\text{m}$  と非常に大きく、交配型が異なる AI35 (母方) と DP246 (父方) を混合すると、接合子は同調して成熟した。mtDNA の分解は、交配後 3 時間目から 5 時間目にかけて急速に進行し、その後 11 時間目にかけて徐々に mt 核様体が消失した。さらに、接合子内における AI35 と DP246 のミトコンドリアを化学染色により識別する手法を開発し、DP246 由来の mtDNA のみが交配後 3 時間目から選択的に分解され、交配後 5 時間目から AI35 由来のミトコンドリアが選択的に増殖することを明らかにした。また、ミトコンドリアの膜電位感受性色素であるテトラメチルローダミンメチルエステルを用いて、mtDNA の分解中にミトコンドリア内膜の崩壊が生じていないことも明らかにした。

続いて申請者は、母性遺伝に関与する DNase の性質を調べるために、mt 核様体の分解が生じ始める交配後 3 時間目の接合子からミトコンドリアを単離し、様々な条件下でインキュベートし、アッセイ前後の mt 核様体の分解を観察することで DNase 活性を評価する semi-in vitro アッセイ法を開発した。単離ミトコンドリア内における mt 核様体の分解は、 $\text{Mg}^{2+}$  存在下のみで生じ、活性 pH 範囲は pH7.5 - 9.0 であることが分かった。また、in vivo で mt 核様体の分解が生じていないアメーバ細胞や変形体、交配後 1、2 時間目の接合子から単離したミトコンドリアでは、mt 核様体の分解は生じなかった。よって、semi-in vitro アッセイ法で検出された DNase 活性は母性遺伝に関与しており、交配後 2 - 3 時間目の間に DNase 活性化機構が存在することが示唆された。

申請者の研究は、真正粘菌の母性遺伝における父方 mtDNA の選択的分解に関与する分子メカニズムの解明に役立つことが期待される。

以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。