

論文内容要旨

第 I 章 序 論

近年、電気泳動法の発達に伴って多くの生物種において、種々のタンパク、酵素が調べられ、自然集団中に、これらの変異体が高頻度で存在していることが明らかにされた (Lewontin and Hubby, 1966)。これは多型現象と呼ばれる。この高度の多型現象は、どのような機構によって維持されているであろうか。これは現在の集団遺伝学の最も重要な問題の一つである。この問題について二つの学説の間で現在激しい論争がなされている。その一つは自然淘汰説であり、もう一つは中立説である。しかし今なお一般的理解には到っていないようである。本稿ではこの論争の問題点を提示し、イエバエの乳酸脱水素酵素 (LDH) アイソザイムの変異体の多型維持機構について述べる。

第 II 章 イエバエ乳酸脱水素酵素アイソザイムの遺伝解析

イエバエ乳酸脱水素酵素 (LDH) の集団遺伝学的研究の基礎として、まずその遺伝的支配を研究した。実験に使用した系統は、二つの突然変異系統 Hokota, ge および一つの野性的系統 Lab, さらに第三染色体上に同時に ro, ge, bwb の三つの突然変異遺伝子を持っている系統を合わせて千種類である。電気泳動は、ポリアクリルゲルを支持体とし、平板法を用いた。各個体は一匹ごとにすりつぶし電気泳動にかけた。

系統間に相違が見られた。系統 Lab では 1 本、Hokota, ge 及び ro, ge, bwb では 3 本のバンドが見られた。同じ 3 本でも Hokota の方はその移動度が大きく、ge と ro, ge, bwb のパターンと明らかに区別できた。この変異体間の交配実験から、イエバエの LDH は、いわゆるアイソザイムとして存在しており、A, B 2 つの遺伝子座により支配されていることが明らかにされた。そして A 遺伝子座には $A^{1.00}$, B 遺伝子座には $B^{0.00}$, $B^{1.60}$, $B^{1.95}$ がそれぞれ対立遺伝子として存在することがわかった。また交配実験によって得られた F_1 のザイモグラムパターンから、LDH 分子は二量体と推定された。さらに ro, ge, bwb と Hokota の交配実験から、B 遺伝子座は第 3 染色体上にあり、ge 遺伝子と強く連鎖していることが明らかにされた。

第 III 章 イエバエ乳酸脱水素酵素アイソザイムの個体発生

イエバエの LDH が発生過程の各段階で異なった生理的役割を持っていたり、それぞれのアイソザイムに機能的な差異が、あったりすれば、発生過程において変動を示すことが期待されるであろう。もしそうであるとすると、そのことは、本研究の最終目標である LDH アイソザイム多型の維持機構解明に何らかの緒口を与えるものと思われる。ここで使用した系統は、Lab と ge である。発生過程の各段階でハエを採集し、そのサンプルをもとに、LDH 活性及び電気泳動像を比較した。系統間では、差はみられなかったが、発生過程において LDH 活性及び電気泳動像の両者に変動が

見られた。まず活性では、幼虫時に最大の活性を示し、蛹、成虫になるとしだいに減少し、幼虫のその約1/10の活性を示した。電気泳動像において、 $B^{1.60}$ 遺伝子支配のバンドが幼虫時にはっきりしたバンドに染まり、全部で3本検出できるが、蛹では、そのバンドが消えるので、全部で1本しか検出できない。成虫では3本検出できた。ge系統の組織間の実験においても、差異を示す結果が得られた。すなわち頭、胸、腹の各部において、それぞれ、その電気泳動像では、1本、2本、3本のバンドが見られた。またLDHの比活性は頭部が最も高い値を示した。以上の結果から、B遺伝子座の遺伝子活性が発生過程において、何らかの調節を受けており、幼虫時に特異的に発現していることが示唆された。

またLDHの分子量をセファデックスG150を用いて推定した。標準タンパクはチトクロームC、ヘモグロビンおよびカタラーゼを選びその溶出量を求めた。その結果、分子量は約160,000と推定された。この値は脊椎動物のLDHの分子量と大差ないものである。

第IV章 イエバエ自然集団における乳酸脱水素酵素アイソザイムの 遺伝的多型とその地理的勾配

すでに第I章で述べたようにタンパクレベルの多型現象の維持機構については、自然淘汰を支持する学派と中立説を提唱している学派との間で活発な論争が行なわれてきたが、依然として結着を見るに到っていない。その最も大きな理由は、対象としている生物種の生態やその目標酵素であるアイソザイムの生理、生化学的諸性質についての知識がまだ十分でないところにあるようである。著者は、この点を考慮してイエバエのLDHを選んだ。イエバエは、昔から研究されており、その生態もよく調べられていてとくに移住の程度についても緒方ら(1960)によって実験的に極めて小さいことが確かめられた。またヒトなどによる輸送(Passive transport)の程度についても殺虫剤抵抗性の野外のデータから推定できるので都合がよい。LDHは脊椎動物で徹底した研究がなされ、その生理的意義がよく理解されている。しかしながらイエバエのLDHについては、全く研究されていなかった。以上がその材料としてえらんだ理由である。電気泳動の方法は前に述べたものと同じである。ここでは全てB遺伝子座についてのみ遺伝解析を行った。日本各地の豚舎からイエバエを採集して、その一匹一匹について遺伝解析を行った。採集した集団の数は全部で24である。また同一集団において季節的変動を調べるために2年間に亘って調査した。

自然集団において、イエバエLDHアイソザイムは、高度に多型的であった。B遺伝子座には、すでに明らかにした三つの対立遺伝子のほかにもう二つの対立遺伝子座 $B^{1.80}$ 、 $B^{2.10}$ が見出された。全部で五つの対立遺伝子のうちで $B^{1.60}$ がすべての集団においても優勢で、その割合は、50%以上であった。この遺伝子の頻度は、北から南にかけて、なだらかな勾配を示した。すなわち北海道の和寒集団の0.921から福岡集団の0.630まで、ゆるやかにその頻度が減少するのが見られた。 $B^{0.00}$ の頻度は平均0.145であり、南日本では、一定しているが、北日本では、やや変動した。 $B^{0.95}$ の頻度は $B^{0.00}$ のそれより低く北の方に行くにしたがって次第に減少した。対立遺伝子 $B^{1.80}$ の割

合は、どの集団においても、10%以下であり、やや安定していた。B²¹⁰の頻度は、すべての集団において最も低くその割合は、0.5%以下である。種々の遺伝子頻度の分布において最も重要なものはB¹⁶⁰の頻度分布であろう。一般に自然集団にみられるある形質の頻度の勾配は、自然淘汰の作用の結果であると解釈される。分子レベルにおいても多くの研究者によってその頻度の勾配が自然集団中に存在することが確かめられ、自然淘汰がやはり分子レベルにおいても作用することが示唆されてきた。(Koehn, 1969)。本研究において認められたこの勾配もまた自然淘汰の作用と考えられる。実際B¹⁶⁰の頻度と年平均気温との間に強い相関関係が見られた。今後このことは、アイソザイム間の生化学的性質の相違を確かめることによって裏付けられるであろう。

第V章 総合考察

一般に生物自然集団中に見られるタンパク、酵素の多型は、生物の進化適応のために重要な存在であると考えられる。このことについては多くの研究者によって主張されてきた(例えば Lewontin 1974)、木村の提唱した中立説(1968)では、中立な分子の行動(確率過程)については詳細であるが、その分子がどのように進化してその生物の中に組み入れられてきたかという進化適応については言及していないと思われる。また適応は常にその環境に対して行なわれるので相対的なものであるから、非適応的あるいは中立なものでも環境が変われば、適応的になりうるし、生物の進化は、このようなものであった。分子レベルにおいても同様のことが言えると思われる。たしかにアイソザイム間の fitness の違いは小さいものもあるであろう。しかし、この小さな違いも、地質時代的年月をもってすれば、その頻度を変えるのに十分であると考えられる。本研究で得られた知見は、自然淘汰の説を支持するものと思われる。

論文審査の結果の要旨

生物の集団には、ある遺伝子座に複数の対立遺伝子が中間的な頻度で共存する遺伝的多型という現象があり、集団遺伝学の対象の中心となっているが、未だその機構については解明されていない。この論文はイエバエ自然集団における乳酸脱水素酵素(LDH)を支配する遺伝子を用いて多型維持機構を明らかにしようとしたものである。先づ第Ⅱ章においてはイエバエLDHを電気泳動によってアイソザイムとして分離し、LDHが2つの遺伝子座(A, B)によって支配される二量体であり、B遺伝子座には複数の対立遺伝子があることを明らかにした。第Ⅲ章ではイエバエの個体発生過程におけるLDHアイソザイムの変化をしらべた結果、発生とともにB遺伝子発現に変動があることが推定された。またクロマトグラフィーによってイエバエLDHの分子量は約160,000と推定された。第Ⅳ章ではイエバエの自然集団を調査し、LDHアイソザイムを支配するB遺伝子が頻度において多型になっていることを確認し、さらに日本各地の自然集団の調査によって、集団間の遺伝子頻度の比較を行った。その結果一つの対立遺伝子(B_{L60})の頻度が北から南にかけて勾配をなし、その頻度は平均気温あるいは平均最低気温と相関を示すことが明らかになった。この結果はすでに報告されているイエバエ集団の非移動性と考え合わせて、LDHを支配する遺伝子が環境(恐らく温度)によって淘汰されていることを示唆するものであり、遺伝的多型に関する集団遺伝学に大きな貢献をなすものである。したがってこの論文は著者がこの分野において自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示しており、よって吾妻健提出の論文は理学博士の学位論文として合格と認める。