

- i) 移植クロマチンによる形質の発現
 - ii) 移植クロマチン量と形質発現頻度の関係
 - iii) 発現した形質の伝わり方
 - iv) 形質の伝わり方のコンピューターシミュレーション
 - v) 細胞の cell cycle の時期と形質の伝わり方のパターンの関連性
 - vi) 異種間におけるクロマチン移植
2. 他の方法を用いた遺伝子移入の試みと Preliminary な結果および論議
- i) 単離大核を細胞に与える実験
 - ii) DNA の大核への注入
3. 付 録
- コンピューターを用いた、シミュレーションおよびデータ整理のためのプログラムの説明とフローチャート

IV 論 議

1. 各 論

- i) 結果1-i) についての論議
- ii) 結果1-ii) についての論議
- iii) 結果1-iii) についての論議
- iv) 結果1-iv) についての論議
- v) 結果1-v) についての論議
- vi) 結果1-vi) についての論議

2. 総括と展望

V 要 約

VI 参考文献

論文内容要旨

真核生物の遺伝子発現の調節機構を明らかにする目的で、細胞に DNA やクロマチンを移植して、in vivo で高率に遺伝子を発現させる系の開発が望まれている。本研究は *Paramecium* の大核を、形質発現の assay の系として開発することを目的とした。

細胞の大核から別の細胞の大核へ顕微針でクロマチンの移植を行なった。このとき移植を容易にするために細胞をゼラチン溶液に包埋する方法を考案した。行動・トリコシストおよび接合型の遺伝子をマーカーにして移植を行なった結果、次の事柄が明らかになった。

1. クロマチンを移植した細胞の中に、移植クロマチン由来の遺伝形質を発現する細胞があらわれた。
2. この形質発現には、細胞分裂は必要ない。
3. 移植から発現までにはほぼ 9～24時間を要する。
4. 移植クロマチン量と遺伝形質の発現頻度には相関関係がある。ゲノム量に換算して 2～4ゲノムという少ない量でも、移植すれば発現する。
5. 形質を発現した細胞が分裂すると、その形質の伝播には 2つのパターンがある。ひとつは細胞が分裂するとその形質を発現した細胞と発現しない細胞が生じ、約 5～8回分裂からは、全体の細胞に対する発現した細胞の割合が一定となって維持されるパターン (Type-I) と、細胞が分裂するとそのクローンのすべての細胞がその形質を発現しているパターン (Type-II) である。Type-I では、発現した形質を維持していたサブクローンにおいては 3つのマーカーすべて Donor 由来のものであり、発現していないサブクローンはすべて Recipient のマーカーのままであった。Type-II のクローンでは、Donor と Recipient のマーカーのヘテロの形質を発現していた。また行動のマーカーの表現度についてみると Type-II の細胞は Type-I に比べて backward swimming の持続時間が比較的短い、またどちらの Type においても、移植クロマチの複製が強く示唆された
6. 5の形質の伝わり方をコンピューターによりシミュレートした。Type-I では移植されたクロマチンが始め娘細胞の片方にのみ分配され、のちに均等分配されると考えると、実際のデータと良く合い、Type-II では、始めから均等分配されると考えると良く合った。
7. Type-I と Type-II のパターンの違いについて、Recipient の cell cycle の時期との関連性が示唆された。
8. *Paramecium multimicronucleatum* および *Paramecium tetraurelia* から *Paramecium caudatum* へ大核クロマチンの移植を行ない、異種のクロマチンが発現したという結果を得た。

このクロマチン移植による形質発現が、10～45%という高率でおこり、その形質が細胞分裂

後も安定して保たれる（特に *Type-II*）こと、また異種のクロマチンの遺伝子も発現することは、*Paramecium* の大核が遺伝子発現の *assay* の系として有望であることを示している。

論文審査の結果の要旨

本論文は遺伝子発現の制御を解析する系として *Paramecium* の大核がすぐれた性質をもっていることに着目し、外部から注射したクロマチンが、その中に含まれる遺伝子をどのように発現し、また複製するかを明らかにしたものである。

まず大核内に注射するために細胞を生きたまま固定する方法としてゼラチンに包埋する方法を開発し、これを用いて、行動突然変異株を受容体として、これに野生型細胞のクロマチンを注射によって移植し、野生型遺伝子がどのように発現するか、また複製するかどうかを調べた。その結果、移植された野生型遺伝子は移植後9～24時間後に発現し、発現には受容体の細胞分裂は必要がないこと、及び移植クロマチン量は最小2ゲノムでも発現すること、しかし発現する受容体細胞の割合は移植量に比例することなどを明らかにした。

次に移植したクロマチンの遺伝子が受容体の細胞の分裂に伴ってどのように娘細胞に伝播するかを調べたところ、伝播の仕方に2つのタイプがあることが明らかになった。一方は均等に分配されるもので、もう一方は分裂ごとに一方の娘細胞にのみ分配されるタイプである。諸種のパラメーターを仮定して野生型形質の伝播の仕方をコンピューターによってシミュレートしてみると移植クロマチンの複製はどこで開始されてもよいが、分配の仕方が、この2つのタイプを決定していることを示唆した。この2つのタイプの違いには移植する時の受容体細胞の細胞周期の時期が重要な関係をもっていることを示唆する結果が得られた。いずれにせよ、移植されたクロマチンの遺伝子は発現するだけでなく複製されることも明らかになった。

さらに、*Paramecium caudatum* とは種を異にする2種のゾウリムシの野生型クロマチンを *P. caudatum* に移植すると、これらも発現及び複製することが明らかになった。

以上の研究はこの研究分野に新しい展望を与えたものであり、春本晃江が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いる。よって春本晃江提出の論文は理学博士の学位論文として合格と認める。