



Title	細胞性粘菌タマホコリカビにおける有性機構について
Author(s)	福井, 義夫
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30873
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・（本籍）	福 井 義 夫
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 2 6 7 7 号
学位授与の日付	昭 和 47 年 12 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	細胞性粘菌タマホコリカビにおける有性機構について
論文審査委員	(主査) 教 授 神谷 宣郎
	(副査) 教 授 春名 一郎 教 授 松代 愛三

論 文 内 容 の 要 旨

要 約

細胞性粘菌は特異な生活史を持つ生物として知られており、その特異性は分類学的に動、植物界の両方に等しく位置づけられているという点によく表わされている。すなわち、偽足運動によって細菌を捕食し個々のアミーバとして増殖するという生活史の前半の性質故に原生動物門・肉質虫類に分類され、又子実体形成を行なって無数の胞子細胞をつくるという後半の性質故に変形菌植物門・無遊子類に位置づけられている。又この生物は単核細胞としての単位を保ったまま完全な生活史を終えるが、元は1個の細胞であったものが、分裂増殖し再び集合して多細胞体をつくり最終的には胞子細胞と柄細胞に分化するという面で、発現現象の最も単純なモデルとして最近使われることが多くなってきた。

この生物に性があるのかないのかという問題は一つの重要な課題として現在まで残されてきた。それは、一面では、このような特異な生物に性があるのかないのかという事柄自体が興味深いからであり、又一面では性の機構を明らかにし、遺伝現象を手段として発生等のより複雑な機構の解明に役立てようというより大きな目標があるからに他ならない。

本研究は細胞性粘菌の性の有無を確認するうえで最も有用な選択形質の一つである薬剤抵抗性株を用いて、異型接合体を分離しそれによってこの生物がある種の有性現象を示すことを明らかにした。更に、その子孫細胞の性質および異型多核体の出現頻度等に基づいてその性の機構を明らかにし、その特徴および意義を主に真菌植物で知られている準有性生殖との対比において論じた。

第一章 安定な薬剤抵抗性突然変異株の分離

一般にこの種の生物は薬剤に対し極めて強い抵抗性を示すものであるが、生長期アミーバに対してcidalな阻害作用をもつ抗生物質を4種類見つけることができた。そのうち抗カビ性のナラマイシンおよびトリコマイシンに対する抵抗性突然変異株がニトロゾグアニジン処理によって誘発され、いく

つかの安定な抵抗性株を単離することができた。その中から1000 μ g/ml ナラマイシン抵抗性の $nar^{*1)}$ 22および5000units/ml トリコマイシン抵抗性の $frill^{*1)}$ を本研究で使用した。前者が野生型と同じ黄色の子実体をつくるのに対し、後者の子実体は色素をもたない。この子実体の色素の有無は、非選択形質として有用な役割を果たした。

第二章 2種類の薬剤抵抗性突然変異株の混合培養からの異型接合体の出現

1) 低頻度の出現：^{*2)}通常^{*3)}の固形培地上で $nar^{*2)}$ 22と $trill^{*2)}$ を混合培養し様々な発生段階で細胞を選択培地に接種した場合、最大で 10^7 細胞の中から二重抵抗性株を単離することができなかった。細胞が正常に子実体形成を行なえないような悪い条件下で始めて有性現象が行なわれるのではないかという仮定に立って様々な条件下で混合培養が試みられた。その結果3通りの条件において二重抵抗性株が $10^{-4} \sim 10^{-6}$ の頻度で出現してくることがわかった。その条件のなかで最も条件づけの容易である液体振盪培養^{*4)}を系として採用し研究を進めた。その結果二重抵抗性株は、培養が定常期に入り24時間以上経って始めて出現してくる事、およびその出現と細胞の形態的变化が平行して起こることがわかった。

2) 高頻度の出現：液体中で振盪培養し定常期に入った細胞を直接選択培地に接種せずに新鮮な液中に希釈し、再度生長させ細胞数が5倍になったところで選択培地に接種すると二重抵抗性株の出現頻度は $10^{-2} \sim 10^{-3}$ まで高まった。この二次培養処理を行なうことにより定常期に入ってから30分の混合培養しか行なわなかったものからも、又通常の培地上で発生させたものからも二重抵抗性株が出現することがわかった。この二次培養の効果を主に表現遅滞の面から論じた。

第三章 細胞融合の細胞学的証拠およびその二重抵抗性株との関連

定常期にある細胞を位相差顕微鏡の下で観察すると確かに細胞融合が起ることが確認された。顕微鏡下で融合した細胞はしかしながら即座に再び分離して単核細胞に戻ってしまうことがわかった。一方定常期の振盪培養下では細胞に粘着性が生じ、数個から20個以上の細胞の凝集体が無数にできる。有性現象の第一段階としての細胞融合は、このような凝集体の中で起っている可能性がある。ギムザ染色で核を染め多核細胞の出現頻度を調べるとその頻度が定常期に入ってから時間と共に増加してゆくことがわかった。多核細胞の一部は細胞融合以外の機構例えば核分裂と細胞分裂の不調和によって生じた可能性があるので、トリチウム・チミジンでラベルした核をもつ細胞をラベルのない細胞と混合することによって異型多核体の出現頻度を調べてみた。その結果、異型多核体が定常期の時間と共に増加してくること、およびその頻度が二重抵抗性株の頻度とほぼ一致することがわかった。

第四章 単離された二重抵抗性株の子孫細胞の性質

1) 倍数性の変化：選択培地上に生じた二重抵抗性株と、それを継代培養した時の倍数性を調べてみた^{*5)}。初め選択培地上に生じたクローンの細胞は全て単核でありそのほとんどは1倍体～2倍体の間の異数性を示した。それを継代培養すると倍数性の変化に2つの型があることがわかった。1) 継代培養によって倍数性がほとんど変化せず、異数性を保持しつづけるもの。2) 倍数性がすぐに1倍体の近辺に戻るもの。しかしこのいずれの型においても完全に1倍体に戻るものは見られなかった。

2) 抵抗性形質の分離：二重抵抗性株を様々な培地で継代培養し、各代ごとに子孫細胞の抵抗性を

調べてみた。調べられた17個の二重抵抗性株のうち、16のクローンはナラマイシン抵抗性 (*nar*) を安定に保持し、トリコマイシン抵抗性 (*tri*) は、トリコマイシンを含んだ選択培地にうえつがれたもののみが保持した。又、この種の株は *nar* 22の親株と同じ黄色の子実体を形成した。残りの1つのクローンでは、反対に *tri* の方が *nar* よりも安定に保持された。しかし薬剤を含まない培地にうえつがれた場合には両方の薬剤に対し感受性 ($nar^+ tri^+$) の細胞が多数分離してきた。又、この株は *tri* 11の親株と同じく無色の子実体を形成した。これらの結果から、二重抵抗性株の起源が確かに異型接合体であって、両方の抵抗性は優性であること、および継代培養の間に染色体の削除が起って部分的な1倍体化をもたらすということが推察された。

結 論

細胞性粘菌がある種の有性現象を示すことが明らかにされた。この現象は、細胞融合に続くべき核融合がすぐに起らないという点と異型接合体が減数分裂を行わないという点で通常の有性生殖とは異なっている。^{*6)} 一方、異型接合体の出現頻度が低いという点、異型接合体が分裂する間に異数性を経て1倍体を生じるという点で子囊菌類や担子菌類で知られている準有性生殖と類似しているが、次の2点に重要な相違点がある。1) この生物では異型多核体が不安定であり、異型多核化現象自体が準有性生殖を行なう生物におけるような重要な意味を持たない。2) 異型接合体が不安定で、即座に染色体の削除が起る。準有性生殖では異型接合体は比較的安定で、生じてくる1倍体の割合は 10^{-3} にすぎない。従って細胞性粘菌では、異型接合体が2倍性のまま体細胞分裂をわずかの回数しか行なわないために、体細胞交差による染色体レベルでの組換え型の出現はほとんど期待できない。

以上から細胞性粘菌の有性現象は真菌植物に見られる準有性生殖より一段と未分化であり、この生物における遺伝子の組換えはゲノム・レベルでの再配合のみであろうという結論が導かれる。

脚註

- * 1) 遺伝子型および突然変異株の表示は、Demerec, et al (1966) の提唱に従った。
- * 2) ラクトースとペプトンを含む寒天培地。餌として *Escherichia coli* を与える。
- * 3) $75\mu\text{g}/\text{ml}$ ナラマイシンと $50\text{units}/\text{ml}$ トリコマイシンを含む寒天培地 (pH 7.0)
- * 4) $\text{M}/60\text{phosphate buffer (pH 6.5)}$ 、 22°C 、 $120\text{cycles}/\text{min}$ 。
- * 5) 染色体の直接的観察が現在では至難であるので Sussman & Sussman (1962) の方法により、胞子長径の分布曲線から判断した。
- * 6) 交配型の有無に関しては現在まで否定的証拠しかない。著者が異なるクローンを用いて種々の組合せで混合培養したが異型接合体の出現頻度に差はなかった。

論文の審査結果の要旨

細胞性粘菌の有性現象に関してはこれまで数篇の研究報告があったが未だ一致した見解が得られていない。福井君はこの問題を検討するために、まず nitrosoguanidine 処理によってナラマイシンおよびトリコマイシンに対する薬剤抵抗性株を単離し、これらの株を混合培養することによって両薬

剤に対し二重抵抗性をもつ株が出現しうるか否かを調べた。通常の固形培地ではこれらの混合培養から二重抵抗性株をうることはできなかったが液体振盪培養では定常期に入って24時間以上を経たものに $10^{-4} \sim 10^{-6}$ の頻度で二重抵抗性株が出現した。さらに定常期に入った細胞を2次培養処理することにより、二重抵抗性株の出現頻度を $10^{-2} \sim 10^{-3}$ まで増加させることができた。

二重抵抗性株が出現する条件下では細胞の凝集体が多数生じるが、この時期に異型多核細胞の出現することが ^3H -thymidine による核のラベルによって認められ、その出現頻度は二重抵抗性株のそれとほぼ一致することが明らかにされた。有性生殖の第一段階としての細胞融合はこのような凝集体のなかで起こると考えられる。

選択培地上に生じた二重抵抗性株の細胞はすべて単核であり、そのほとんどは1倍体～2倍体の間の異数性であった。この事実は二重抵抗性株の細胞は、細胞融合の後さらに核融合を経てつくられることを示している。単離した二重抵抗性株を継代培養すると子孫細胞の抵抗性が保持される場合と徐々に消失する場合があることがわかる。これらの観察から(1)二重抵抗性の起源は異型接合体であること、(2)両者の抵抗性は優性であること、(3)抵抗性の部分的消失は継代培養の過程で起こる染色体の削除によるものであることが推論された。

以上の観察結果は細胞性粘菌にある種の有性現象があることを示しているが、細胞融合に続くべき核融合がすぐに起らない点と、異型接合体が減数分裂を行わない点で通常の有性生殖とは異っている。一方上記の現象は子囊菌や担子菌類で知られている準有性生殖といくつかの類似点と相異点を持ち、細胞性粘菌の有性現象は真菌植物に見られる準有性生殖より更に一段と未分化であるという新しい結論が得られた。

以上福井君の研究は生物界における性の意義と起源を理解する上に寄与するところ多く、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。