

論文審査の結果の要旨

氏名 棚 橋 貴 子

本論文は5章からなる。第1章の序論では、植物の形態形成に重要な役割を果たす *FLORICAULA/LEAFY*(*FLO/LFY*、以下 *LFY* と略)遺伝子についてのこれまでの研究がまとめられ、最初の陸上植物であるコケ植物セン類の1種ヒメツリガネゴケの *LFY* 相同遺伝子の解析が植物形態と形態進化を理解する上で重要であることが述べられている。*LFY* 遺伝子は被子植物シロイヌナズナなどで栄養成長から生殖成長への転換を誘導する転写因子をコードし、さらに、花器官のアイデンティティを決定するホメオティック遺伝子群の転写を活性化することにより花の形成の制御に深く関わる。被子植物の独特の器官である花の形態を支配する *LFY* 遺伝子の相同遺伝子が、花の咲かないシダ植物やコケ植物ではどのような機能をもっているかを明らかにすることは、陸上植物におけるこの遺伝子の機能と進化を探る上で重要であることを指摘し、本研究の動機づけが明瞭に述べられている。ヒメツリガネゴケは外来 DNA とゲノム DNA の相同組み換え率が高いため遺伝子ターゲティングが容易なモデル植物であり、本研究に適していることにも言及している。第2章はヒメツリガネゴケから単離された *LFY* 相同遺伝子 *PpLFY1*、*PpLFY2* を TAIL-PCR 法により決定した塩基配列の比較、およびゲノムサザン解析から *PpLFY1*、*PpLFY2* が唯一のヒメツリガネゴケ *LFY* 相同遺伝子であると考えられることをまず示し、さらに発現パターンについて述べている。RT-PCR 法および *PpLFY1*-GUS、*PpLFY2*-GUS タンパクの発現

パターン解析により、*PpLFY1*、*PpLFY2* がコケの原糸体ではほとんど発現せず、茎葉体（配偶体）の芽、茎頂、造卵器と卵細胞、および若い孢子体と発生中の孢子嚢と足で発現することを確認した。このことから、形態形成が活発に起きている配偶体と孢子体の組織で広く発現することを示した。第3章は *PpLFY1*、*PpLFY2* が *LFY* 遺伝子と同様の機能をもっているかどうかを明らかにするために、これらをシロイヌナズナに遺伝子導入し過剰発現させて表現型への影響を調べた研究について述べている。結果は正常な個体と変わらない表現型を示した。これから、*PpLFY1*、*PpLFY2* はシロイヌナズナとは同じ機能をもっていないことが示唆された。さらに、裸子植物では遺伝子導入解析により、裸子植物 *LFY* 相同遺伝子がシロイヌナズナと同様の機能をもっているといわれているので、コケ植物の発現パターンは裸子植物とも異なっていることが示された。第4章は *PpLFY1*、*PpLFY2* の機能解析の結果が述べられている。両遺伝子について一重破壊株と二重破壊株を作出し、表現型を調べたところ、造卵器を含む配偶体組織は正常であったが、孢子体形成率が *PpLFY2* 一重破壊株は若干低く、*PpLFY1* 一重破壊株は非常に低く、さらに二重破壊株ではほとんど孢子体ができないという結果が得られた。*PpLFY1*、*PpLFY2* の機能をさらに特定するために、遺伝子破壊株の卵細胞と胚の形態を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。その結果、二重破壊株の卵細胞は受精後の接合子の段階で発生が停止していると推定された。さらに、遺伝子破壊株雌親と野生株雄親の交雑実験から破壊株の卵細胞の受精能は正常であることを確かめ、ごく低い率で生じるさまざまに異常な孢子体の構造観察から、*PpLFY1*、*PpLFY2* は接合子の発生以外にも孢子体の形成過程にも関与している可能性が示唆された。第5章は総合考察として、得られた結果と先行研究の知見を総合して、*LFY* と相同遺伝子の進化と、それに関連する植物進化について推論している。本研究によって明らかにされたように、コケ植物

ヒメツリガネゴケにおいて接合子の発生を制御するのに関わる *LFY* 相同遺伝子は他の陸上維管束植物のものとは大きく異なる機能をもつ。これに対して、原始的な維管束植物であるシダ植物ミズワラビでは *LFY* 相同遺伝子 *CrLFY* はシュート頂や若い孢子葉で発現するが、このシダの *MADS-box* 遺伝子の発現パターンとは異なるので、*CrLFY* 遺伝子による *MADS-box* 遺伝子の発現制御はシダ段階ではできあがっていないと考えられている。種子植物では *LFY* 遺伝子が *MADS-box* 遺伝子の発現を誘導して花器官のアイデンティティを決定する制御系が存在する。これら相同遺伝子の比較から、*PpLFY* はきわめて微少で単純なコケ植物の孢子体の初期発生を制御していることを示し、その後の機能変化によって後発の陸上植物の複雑に分化した孢子体が生じた可能性を示唆した本研究は注目に値する発見を含んでいる。*FLO/LFY* 遺伝子は陸上植物からのみ知られており、その進化が陸上植物の進化と多様化に深く関与したと考えられるが、本研究によって陸上植物の進化、特に孢子体の初期進化についての理解が大きく前進したといえる。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。