

論文審査の結果の要旨

氏名 アムル・モハメド・アジーズ

本論分は3章からなり、第1章は2つのホメオドメイン・ロイシンジッパー遺伝子の単離と解析、第2章は雄花蕾で発現する雄の稔性にかかわる遺伝子の単離と同定、第3章は雄花の葯で強く発現するヒロハノマンテマのソマチン様タンパク質について述べられている。

ヒロハノマンテマ(*Silene latifolia*)は、形態学的に識別可能な性染色体XとYをもっている。雄株(22A+X+Y)は10本の雄蕊と退化した雌蕊をもつ雄花を発達させ、雌株(22A+2X)は花柱と上位子房と10本の退化した雄蕊をもつ雌花を発達させる。また、雌花に黒穂菌 *Microbotryum violaceum* が感染すると、退化していた雄蕊は葯を発達するようになる。発達した葯には花粉の代わりに黒穂胞子が含まれる。本論文提出者のアムル・モハメド・アジーズは、植物とその寄生菌を巧みに用いて、ホメオボックス遺伝子をはじめ、雄花の蕾や葯で発現する雄の稔性にかかわる遺伝子を単離した。それらは、将来、雄性不稔を遺伝子操作する方法を考案し、雄性不稔回復遺伝子と稔性遺伝子との相互作用を深く理解するうえでも極めて有益になる。

第1章で単離したのは2つのホメオドメイン・ロイシンジッパー遺伝子、*SIHDL1*と*SIHDL2*である。これらは特徴的な転写因子であるHD-Zipをコードしていた。*In situ*ハイブリダイゼーション(ISH)は、*SIHDL1*が特異的に葯の最外層と雌蕊の内層で途切れ途切れに発現しており、これは*SIHDL1*の翻訳産物がヒロハノマンテマの花器官の表皮組織形成の初期発達段階で働いていることを示唆していた。葯と雌蕊の発現パターンは、*SIHDL1*が生殖器官の分化にかかわっていることを示唆している。また、*SIHDL2*の転写産物の著しい蓄積が葯と花粉にあることを、リアルタイムPCRとISHで明らかにしている。ヒロハノマンテマの花器官での特異的な遺伝子発現が*SIHDL1*と*SIHDL2*によって制御している可能性がある。

第2章で単離したのは雄花蕾で発現する雄稔性にかかわる遺伝子である。ヒロハノマンテマの稔性花粉で発現する遺伝子を単離するため、健康な雄花蕾と黒穂菌感染雌花でcDNAサブトラクションをし、1356のcDNAクローンライブラリーを構築した。調べた36のクロー

ンについては、先に同定された雄花特異的な遺伝子 *men2*, *men3*, *men8*, *men9*, *men369*, *MROS3A*, *MROS3B*, *ST1*, *CCLS4*, *SIX1* と *SLP2* に一致していた。バーチャルノーザンブロット解析で、雄特異的な7つのcDNAクローンを同定した。そのうち5つは、*SIGh17*, *SIAPG*, *SISs*, *SIMDL1* と *S1Chs* と名付けられ、グリコシル脱水素酵素17の蛋白質ファミリー(*Gh17*)、葯特異的プロリンリッチ(APG)蛋白質前駆体、ストリクトシリンジン合成酵素ファミリー(*Ss*)、マンデロニトリル分解酵素ファミリー(*MDL1*)、とチャルコン合成酵素ファミリー(*Chs*)にホモロジーがあった。これら5つの転写産物は、タペート細胞活性、カロース沈着、減数分裂に入って花粉四分子を作る花粉母細胞によって特徴付けられる時期に、特異的に蓄積されていた。ISHの結果は、*SIGh17*の転写産物は成熟した花粉に蓄積していた。*SIAPG*と*S1Chs*はタペート細胞で発現していたが、その発現はタペート細胞の崩壊とともに止まっていた。*SIMDL1*と*SISs*の転写産物はタペート細胞と小孢子で花粉が成熟するまで発現していた。*SIGh17*と*S1Chs*の全長を単離した。*S1Gh17*タンパク質グループは系統樹では葯特異的な小さなサブグループがあった。タペート細胞と花粉における*SIGh17*の強い発現はISHで確かめられている。系統樹では、*S1Chs*は、すでに単離された6つのカロース合成酵素のサブグループに分類できた。

第3章では雄花の葯で強く発現するヒロハノマンテマのソマチン様タンパク質について述べている。雄花と黒穂菌感染雌花のサブトラクションで作成されたcDNAライブラリーのスクリーニングで、ヒロハノマンテマのソマチン様タンパク質遺伝子(*S1Th*)のcDNAが単離された。*S1Th*は、生体内で菌類病原菌の成長を阻害する可能性がある。*S1Th*の転写産物は健康な雄花の蕾で非常に多く、また雌花の蕾でも発現していることがわかった。*S1Th*遺伝子の全長cDNAはRACEシステムを使って単離した。ゲノミックサザンハイブリダイゼーションのパターンから*S1Th*が単一コピー遺伝子であることがわかった。*S1Th*は疎水性のN末端シグナル配列をもったタンパク質をコードしている。この分泌タンパク質は、多くの単子葉植物で見つかっている保存的なCys残基の欠損型17-kDではなく、保存的なCys残基を保持した24~25-kDのソマチンタンパク質だと予測された。*S1Th*の発現パターンはISHを用いて調べた。雄花と雌花両方の蕾の発達段階の後期に*S1Th*の転写産物は蓄積していた。*S1Th*転写産物は雌花の蕾の雌蕊と花卉に蓄積されていることがモニターさ

れている。これに対して、雄花の蕾では、*S1Th* 転写産物は明確に雄花の蕾の葯と特に四分子と花粉で蓄積していた。また、タペート細胞では発現は見られず、雄花の蕾のがくと花卉でも同様に発現は認められなかった。

なお、本論文第1章は、松永幸大、内田和歌奈、杉山立志、風間裕介、河野重行との共同研究で、共著論文として論文発表もしているが、本論文提出者の寄与が十分であると判断する。また、本論文第2章も、風間裕介、杉山立志、河野重行との共同研究であるが、これも本論文提出者の寄与が十分であると判断できる。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。