

# 論文審査の結果の要旨

氏名 風間 裕介

本論文は4章からなり、第1章ではヒロハノマンテマの染色体末端サテライト DNA に *KpnI* サブファミリーが存在すること、第2章ではヒロハノマンテマの染色体末端サテライト DNA の4種類のサブファミリーの局在と染色体末端の識別、第3章ではヒロハノマンテマの *SUPERMAN* 様遺伝子の雌特異的発現、第4章ではヒロハノマンテマの B 機能遺伝子 *SLM2* 発現の黒穂菌によって受ける影響について述べられている。

Y 染色体をもつ植物は少なく、植物の性染色体の進化や機能についての情報も少ない。誕生して約 2,000 万年という比較的新しい性染色体をもつヒロハノマンテマを用いた研究によって、性染色体が構築された起源が明らかにされると期待される。性染色体は、1 対の常染色体が組換え抑制を起こして誕生したといわれている。本論文では、染色体末端に存在する反復配列、サテライト DNA を細胞遺伝学的マーカーとして用いて、X 染色体に転座が起こった末端と、Y 染色体と相同な末端(Pseudo Autosomal Region = PAR)をマッピングした。第1章では、サテライト DNA を含む BAC をスクリーニングし、130 kb にわたって反復単位が繰り返す領域を単離した。そのうち 8.4 kb の塩基配列を決定したところ、既知の反復単位とは 15%配列が異なるサブファミリーが存在することを明らかにした。植物のサテライト DNA にサブファミリーが存在することが発見された。

第2章では、10 個の BAC クローンから合計 120 の反復単位を同定した。反復単位の配列を近隣結合法で比較し、サテライト DNA が4種のサブファミリーに細分化できることを明らかにした。さらに、サブファミリー同士のわずかな配列の違いを利用したマルチカラー競合 FISH を開発した。これまで識別できなかった染色体末端同士をシグナルの色調の違いで見分けることに成功した。Y 染色体の PAR のシグナルは、X 染色体の p 腕のシグナルと相同であり、PAR が X 染色体の P 腕であることを視覚的に示した。この結果は、1940 年に Westergaard によって提唱された X 染色体の PAR の位置を修正するものであった。

ヒロハノマンテマに黒穂菌(*Microbotryum violaceum*)が感染すると、雌花であるにもかかわらず、雄蕊が伸長する。このヒロハノマンテマ特有の現象を利用して、第3章、第4章では、雌雄異株植物の雄蕊伸長制御機構を明らかにしている。第3章では、シロイヌナズ

ナの *SUPERMAN* 遺伝子(*SUP*)のホモログ *SISUP* が、ヒロハノマンテマで雌の蕾特異的に発現することを示した。*SUP* は、細胞の伸長を制御して過剰な雄蕊の伸長誘導を抑制する遺伝子である。*SISUP* は、雌花において抑制された雄蕊原基で発現していた。この結果は、*SISUP* は雌花で雄蕊伸長を抑制することを示す。雄や感染雄では発現しなかったことから、*SISUP* は Y 染色体上の雄蕊促進領域によって発現が抑制されていると考えられる。

第 4 章では、B 機能遺伝子 *SLM2* の発現を調べている。*SLM2* は、シロイヌナズナの *PISTILLATA*(*PI*)のホモログである。*PI* は、花器官のうち花弁と雄蕊の形成に関わる遺伝子である。*SUP* は *PI* の発現を抑制する機能をもつといわれている。ヒロハノマンテマの蕾の発達段階は 12 のステージに分けられる。*SLM2* はステージ 3 から発現し始め、ステージ 7 までは、雄、雌、感染雌ともに雄蕊原基と花弁原基で発現していた。ステージ 8 では、雄では花弁同様に雄蕊でも発現するのに対し、雌では、雄蕊での発現が停止していた。感染雌では、*SLM2* は雄蕊で発現しつづけ、雄同様の発現を示した。Y 染色体をもつ雄では、*SISUP* は発現せず、*SLM2* が雄蕊で発現し続ける。Y 染色体がない雌では、*SISUP* が雄蕊原基で発現し、ステージ 8 において *SLM2* の発現が抑制される。黒穂菌感染雌では *SISUP* は雄蕊で発現するが、黒穂菌感染の影響で、*SLM2* が雄蕊で発現し続ける。Y 染色体は *SISUP* の発現を制御することによって雄蕊を伸長させ、黒穂菌は *SISUP* の下流の遺伝子 *SLM2* の発現を誘導することで雄蕊を伸長させることが明らかとなった。

ヒロハノマンテマは雌雄異株植物のモデル生物とはいえ、分子生物学的研究が容易とはいええない。ゲノムサイズが 4,000 Mb と巨大で、形質転換系が確立されていないのである。本論文では、マルチカラー競合 FISH や、黒穂菌感染系といった独創的な研究手法を用いてこれらの困難を克服している。そして、X 染色体の方向性を修正し、Y 染色体による雄蕊伸長の制御機構の一端を明らかにしている。これらの成果は、論文提出者が博士の学位を受けるのに十分な学識を持つことを示す。したがって、博士(生命科学)の学位を授与できると認める。