

# 論文審査の結果の要旨

氏名 石井 公太郎

本論文は4章からなり、雌雄異株植物ヒロハノマンテマのBACライブラリーを用いた性染色体の精密なマッピングと、重イオンビーム照射変異体による性染色体の構造の解析について述べたものである。第1章はXq腕と7番染色体末端に存在する相同な配列を含むBACクローンの解析、第2章は*SLAP3X/Y*遺伝子の遺伝・物理マッピングによる性染色体の段階的進化の解明、第3章はY染色体特異的STSマーカーMS2とその近傍領域の配列解析、第4章は重イオンビーム照射による性の表現型異常とY染色体上の欠失領域の関連性について述べられている。

ヒロハノマンテマのXY性染色体は1組の常染色体ペアが異形化して形成されたとされる。しかし、これまでの性染色体についての情報量は非常に少ない。本論文で得られた知見はヒロハノマンテマの性染色体の異形化の過程を明らかにするうえで重要である。

第1章では、染色体末端特異的サテライトDNAである*KpnI*サブファミリーを含むBACクローン#15B12を解析した。*KpnI*サブファミリーのFISH解析はXY染色体の末端が異なる配列をもつことを示していた。#15B12のインサート配列150 kbの両端を配列解析し、インサート中での*KpnI*サブファミリーの420回の反復と、それに隣接する非反復性配列を明らかにした。#15B12の配列がX染色体に由来するかを確かめるためにFISH解析を行った。#15B12に隣接するBACクローン#56b11Cを単離した。#56b11C全体をプローブとした解析により、これらの配列がX染色体に由来することが明らかになった。さらに、#15B12の非反復性の配列からなるプローブでは、Xq腕末端と、7番常染色体ペアの片末端にシグナルがみられた。これによりXq腕末端の配列が7番常染色体の末端の配列と相同性をもつことが示された。これにより性染色体の異形化の過程で、原7番染色体末端から原X染色体のq腕末端への転移、あるいは原Y染色体末端から原7番染色体末端への転移が示唆された。

第2章では、*AP3*ホモログ含むBACクローンの解析を行った。*AP3*はシロイヌナズナで雄蕊の形成に関与し、ヒロハノマンテマ

のホモログ *SIAP3* も性決定遺伝子の一つではないかと注目されている。*SIAP3* は 2 コピーの cDNA 配列が単離されていた。BAC ライブラリーからそれぞれのコピーを含むクローンを単離した。連鎖解析から、それぞれ X 染色体 (*SIAP3X*) と Y 染色体 (*SIAP3Y*) 上にあることがわかった。*SIAP3X* は全長 1.7kb であったが、*SIAP3Y* の全長は 26 kb であった。*SIAP3X/Y* を含む BAC クローン中にはそれぞれ 2 個、1 個の転移因子ではない遺伝子が予測された。2 つの遺伝子の性染色体上での位置を決定するために FISH 解析を試みた。*SIAP3Y* は Y 染色体 q 腕のセントロメア近傍に位置することがわかった。*SIAP3X* は X 染色体 q 腕のセントロメア付近に存在することがわかった。このことから、性染色体の異形化の過程で、Y 染色体に動原体を含んだ逆位が起きたことが示唆された。

第 3 章では、Y 染色体特異的 STS マーカー MS2 を含む BAC クローンの解析を行った。デリションマッピングにより、MS2 は PAR 近傍のマーカー L8 と同じ座位にマッピングされた。PAR 近傍の対立遺伝子を単離することを期待して、ショットガンクローニングにより 109 kb のインサート配列を決定した。ORF Finder を用いた解析により 100 アミノ酸残基以上からなる 9 個の ORF が予測された。RT-PCR 解析により内 4 個の ORF の雌雄両方での発現が確認された。これらは PAR 近傍の対立遺伝子の候補である。さらに内 1 個の *ORF211* について連鎖解析を行い、Y 染色体と X 染色体にそれぞれ存在する対立遺伝子、*ORF211X/Y* を単離した。

第 4 章では、重イオンビーム照射による Y 染色体欠失領域と性に関する表現型異常の対応付けを試みた。重イオンビーム照射種子当代では得られた Y 染色体の欠失はほとんどがキメラであった。そこで花粉へ重イオンビームを照射した。5 個体の両性花変異体、4 個体の無性花変異体、4 個体の葯発育不全変異体を得た。変異体の Y 染色体の欠失を、報告されていた γ 線照射変異体と比較した。雌蕊抑制機能、雄蕊促進機能がそれぞれマーカー MK17、ScQ14 と緊密に連鎖した。ScQ14 を含む BAC クローンのインサート配列を配列解析し、3 個の雄蕊促進機能遺伝子の候補が予測された。

なお、本論文第 1 章は天内康人、風間裕介、池田美穂、鎌田博、河野重行との、第 2 章は杉山立志、大貫恵美、風間裕介、松永幸大、河野重行との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士(生命科学)の学位を授与できると認める。