

氏名	いし ざき きみ つね 石 崎 公 庸
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1351 号
学位授与の日付	平成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	農学研究科応用生命科学専攻
学位論文題目	Gene identification and characterization of sex chromosome Y in the liverwort, <i>Marchantia polymorpha</i> (ゼニゴケ Y 染色体遺伝子の単離と解析)
論文調査委員	(主 査) 教授 大山 莞 爾 教授 佐藤 文 彦 教授 西岡 孝 明

### 論 文 内 容 の 要 旨

植物にも動物と同様に、性染色体によって性が決定される雌雄異体種が存在する。しかし植物の性染色体については断片的な配列情報が得られているのみであり、性染色体上の遺伝子に関する知見も極めて少ない。その中で、最も原始的な陸上植物と言われるゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) は半数体であり、Y 染色体を持つ個体は雄に、X 染色体を持つ個体は雌に分化する。またゼニゴケ性染色体のサイズは Y 染色体が約 10Mb、X 染色体が約 20Mb と小さく、網羅的な一次構造解析に有利である。ゼニゴケ Y 染色体は、Y 染色体特異的な反復配列が局在した YR1 領域と、それ以外の YR2 領域に大別され、一方 X 染色体は rDNA が蓄積した領域と、それ以外の領域に大別される。

本論文では、性染色体のサイズが他の植物に比べて小さいゼニゴケをモデルとし、性染色体の一次構造解析から、遺伝子を単離、解析し、性染色体の機能と進化のメカニズムについて考察することを試みたものである。その主な内容は以下の通りである。

第 1 章では、YR1 領域の配列情報について述べている。YR1 領域に由来するクローン pMM2D3 (約 90kb) の塩基配列を解析することにより、既知アミノ酸配列と相同性を示す 5 個の遺伝子を見出している。そのうちの一つ *M2D3.4* は雄の生殖器でより強く発現していることをノザン解析によって示し、この遺伝子が雄生殖器特異的な機能を持つ可能性を示唆している。さらにこれら 5 つの遺伝子が、いずれも Y 染色体にマルチコピー遺伝子として存在することを、ゲノミックサザン解析により示している。ヒトの Y 染色体では遺伝子を含む 100kb 以上の領域が、順向きまたは逆向きに反復することによって、そのコピー数が増幅した例が報告されており、ゼニゴケにおいても同様のメカニズムが働き、YR1 領域に存在する遺伝子が Y 染色体特異的にそのコピー数を増幅した可能性があることを示唆している。

第 2 章では、YR2 領域の配列情報について述べている。YR2 領域に由来する 2 つのマーカーを起点として約 970kb のコンテグマップを構築し、そのうち約 714kb について塩基配列を決定している。この領域から既知アミノ酸配列と相同性を示す 5 個の遺伝子と 1 個の偽遺伝子を見出している。5 個の遺伝子について YR1 領域で見出した遺伝子とは対照的に、いずれも雄ゲノム特異的な単一コピー遺伝子であることをゲノミックサザン解析および PCR 解析によって示し、YR1 領域と YR2 領域で遺伝子のコピー数が異なる可能性を示唆している。

第 3 章では、X 染色体のうち rDNA が蓄積していない領域の配列情報について述べている。X 染色体に由来する PAC クローン pMF28-62B12 (約 111kb) の塩基配列を決定し、既知アミノ酸配列と相同性を示す遺伝子を 1 個、偽遺伝子を 1 個、見出している。この X 染色体遺伝子、*F62B12.1* は植物の青色光受容体などに見られる LOV (Light, Oxygen, and Voltage) ドメインを持ち、塩基配列レベルでは雌ゲノム特異的な単一コピー遺伝子であることを、ゲノミックサザン解析および PCR 解析によって示している。一方で *F62B12.1* は、既に単離されていた Y 染色体遺伝子、*M104E4.1* とアミノ酸配列レベルで相同性があり、両方でタンパク質コード領域におけるイントロン挿入部位が完全に一致していることを示しており、これら 2 つの遺伝子が進化的に同一遺伝子に由来する可能性を示唆している。

## 論文審査の結果の要旨

植物界には少数派ではあるが雌雄異体植物が存在し、雌雄異体植物の中には性染色体によって性が遺伝的に決定される種が存在する。性染色体の構造や、性染色体による性決定の制御機構はヒト、ショウジョウバエ、線虫などの動物を中心に研究が行われており、様々な知見が得られている。しかし、植物の性染色体については、これまで研究の行われてきた植物種のゲノムサイズが非常に大きいことから性染色体の構造解析は遅れており、その解明が待たれている。本論文は、他の植物に比べて小さな性染色体を持つ原始陸上植物ゼニゴケ性染色体一次構造の解析から、性染色体上の遺伝子を単離、解析し、植物性染色体の機能、進化のメカニズムについて考察することを試みたものである。これまでにゼニゴケ Y 染色体は、Y 染色体特異的な反復配列が局在した YR1 領域と、それ以外の YR2 領域に大別され、一方 X 染色体は rDNA ユニットが蓄積した領域と、それ以外の領域に大別されることが分かっていた。評価すべき点は以下の通りである。

1. ゼニゴケ Y 染色体のうち YR1 領域について、新たに約 90kb の塩基配列情報を明らかにし、5 個の遺伝子を見出した。5 個の遺伝子のうちの一つ *M2D3.4* が雄の生殖器官でより多く発現していることを示し、雄性生殖器官特異的な機能を持つ可能性を示唆した。さらに YR1 領域より見出された 5 個の遺伝子はいずれも Y 染色体にマルチコピー遺伝子として存在していることを示した。以前の研究とあわせると、これまで YR1 領域より見出された 6 個の遺伝子が全て Y 染色体にマルチコピー遺伝子として存在しており、Y 染色体特異的な反復配列が蓄積している領域の遺伝子は Y 染色体にマルチコピー遺伝子として存在する傾向があることを示唆した。
2. YR2 領域について、新たに約 714kb もの塩基配列情報を明らかにし、5 個の遺伝子と 1 個の偽遺伝子を見出した。見出された 5 個の遺伝子はいずれも Y 染色体特異的な単一コピー遺伝子であることを示した。以前の研究とあわせると、これまで YR2 領域より見出された 6 個の遺伝子が全て Y 染色体特異的な単一コピー遺伝子であり、YR1 領域と YR2 領域で遺伝子のコピー数が異なる傾向にあることを示唆した。
3. X 染色体のうち rDNA が蓄積していない領域について、新たに約 111kb の塩基配列情報を明らかにし、1 個の遺伝子と 1 個の偽遺伝子を見出した。X 染色体から見出された遺伝子 *F62B12.1* は、塩基配列レベルでは X 染色体特異的な単一コピー遺伝子であるが、アミノ酸配列レベルでは Y 染色体遺伝子 *M104E4.1* と同一性があることを示し、さらに進化的に両者の起源が同一である可能性を示唆した。

以上のように本論文は、植物性染色体の一次構造と遺伝子についての理解を大幅に前進させたものであり、植物分子生物学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、平成15年2月18日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。