

氏名(本籍)	さか もと こう いち 阪本浩一(群馬県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第2,009号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Morphological and Molecular Biological Analysis of Sex Chromosomes in Hemp ( <i>Cannabis sativa</i> L.) (アサの性染色体の形態学的・分子生物学的解析)
主査	筑波大学教授 理学博士 鎌田 博
副査	筑波大学教授 理学博士 井上 勲
副査	筑波大学教授 理学博士 小熊 讓
副査	筑波大学助教授 理学博士 佐藤 忍

### 論文の内容の要旨

被子植物の殆どの種は両性花をつける雌雄同株植物であるが、キュウリ、トウモロコシなどの雌雄異花同株植物や、メランドリウム、アサなどの雌雄異株植物など、性分化の進んだ種も存在する。このうち、雌雄異株植物では、複数の種において性染色体の存在が報告されている。しかし、その性決定メカニズムは言うに及ばず、性染色体の構造や機能に関する知見も極めて乏しいのが現状である。本論文では、雌雄異株植物の中で、性の遺伝様式がXY型であり、かつY染色体がX染色体よりも2倍近い大きさであることが報告されているものの、その後の解析が進んでいないアサ科のアサ(*Cannabis sativa* L.)を材料とし、性染色体を形態学的・分子生物学的に解析することにより、性染色体の構造や機能に関する知見を得ることを目的としている。

まず、アサの性染色体の体細胞分裂・減数分裂像などの詳細な形態学的観察を行った。その結果、Y染色体は著しく大きな長腕をもち、短腕には長いサテライトが存在した。一方、X染色体は小さく、両末端に短いサテライトをもつことがわかった。さらに、Y染色体の特徴として、細胞分裂前期から中期にかけて、サテライトと長腕部が著しく凝縮することがわかった。また、減数分裂像の観察から、Y染色体の短腕側とX染色体とがペアを形成することが予想され、Y染色体は、形態学的に常染色体やX染色体と著しく異なり、特にその長腕部が分化していることが示唆された。

次に、アサの雌雄間におけるゲノムサイズの比較を行った。その結果、2倍体の雌・雄のゲノムサイズは各々1636・1683 Mbpで、雌雄間に2.8%の差が見出された。さらに、アサの雌雄間のゲノムDNAの比較を分子生物学的手法を用いて行った。まず、155種類のランダムなプライマーを用いたRandom Amplified Polymorphic DNA (RAPD)法を行うことにより、アサの雄株に特異的なバンドを25本獲得した。それら増幅されたDNA断片をクローニングし、それらをプローブとしてゲノミックサザンブロッティングを行ったところ、雄株に特徴的にハイブリダイズする8つのDNA断片が同定された。これらのうち、雄株に特に顕著なバンドが検出された断片をMADC (Male associated DNA sequence in *Cannabis sativa* L.)1,2,3と命名し、それらをプローブに用いてFluorescence in situ hybridization (FISH)を行った。その結果、MADC2,3は常染色体を含む全ての染色体上にランダムに多数のシグナルが検出されたが、MADC1では、Y染色体の長腕末端部だけに明瞭なダブレットのシグナルが検出され、MADC1がその部位に約50コピー蓄積していることが判明した。シークエンス解析の結果、MADC1はレトロトランスポゾンの逆転写酵素と高い相同性を示した。そこで、Thermal asymmetric interlaced (TAIL) PCR

法を用い、MADC1近傍配列の3'端側2.6Kbpと5'端側2.7Kbpをクローニングし、そのシーケンス解析を行った。その結果、LINE様レトロトランスポゾンがY染色体長腕末端部に部位特異的に蓄積していることが明らかとなった。

本研究により、植物の性染色体の分子的特徴の一つが明らかとなり、特定のレトロトランスポゾンがY染色体の特定部位に蓄積していることが見出され、このレトロトランスポゾンがアサの性染色体の異質化やキアズマ形成阻害に関係している可能性が提示された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文において、従来全く不明であった植物の性染色体の分子的特徴の一端を初めて明らかにしたことは高く評価できる。このレトロトランスポゾンが、どの様に性染色体の機能や分化に関係しているか、他の植物種ではどうかなど、今後解明してゆくべき問題も残されているものの、レトロトランスポゾンが性染色体の異質化やキアズマ形成阻害に関係している可能性を提示した本研究は、植物の性分化機構の解明に多大なる貢献をされると考えられる。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。