

論文審査の結果の要旨

氏名 川元 寛章

本博士論文は 3 章からなる。第 1 章は雄蕊と雌蕊における細胞周期の停止と細胞死について述べられている。雌雄異株植物ヒロハノマンテマの単性花の形成には、細胞周期の停止や細胞死の関与が考えられる。また、黒穂菌が引き起こす雌花から雄花への性転換がどのように起きているかを調べた。二重染色 *in situ* hybridization と TUNEL アッセイにより、ヒロハノマンテマの雌花の雄蕊と雄花の雌蕊では、その原基で細胞周期の停止と細胞死の両方が起きていることが明らかになった。ヒロハノマンテマの雌花は、黒穂菌が感染することで、雄蕊が発達する。黒穂菌が感染した雌花では、雄蕊の細胞周期は進行し細胞死も起こらなくなることを明らかにした。黒穂菌が感染したヒロハノマンテマの葯内の動態を理解するために、シロイヌナズナで定義された発達段階をもとに葯の発達段階を定義した。そして、黒穂菌が感染した葯で、TUNEL アッセイにより細胞死を検出した結果、花粉母細胞、中間層、内皮ではネクロシス様の TUNEL ネガティブな細胞死が起きていた。タペート細胞でのみ正常な雄花と同様に TUNEL ポジティブな細胞死が検出されたが、細胞壁が薄いため細胞壁の崩壊や核質の溶出をとともなう細胞死が起きていることを明らかにした。

第 2 章は無性花変異体に黒穂菌が感染すると起きる変化について述べられている。ヒロハノマンテマの雄花においては雌蕊の発達が抑制され、雌花では雄蕊の発達が抑制される。黒穂菌は、ヒロハノマンテマの雌花に感染したとき、雄蕊の発達を促進する。1 章で明らかになった通り、雌雄の単性花で雄蕊と雌蕊の発達の抑制がそれぞれ同じ機構で働いているのならば、雄蕊の発達抑制が黒穂菌の感染により解除されるとき、同時に雌蕊の発達抑制も解除されると考えられる。そこで、無性花変異体 (XY^d) に稀に咲く花柱を 2 本しかもたない雌様花と WT の雄花 (XY) を掛け合わせ後代を作出し、得られた後代に対し、黒穂菌を接種し PCR により、黒穂菌に感染したヒロハノマンテマの中から無性花変異体を選抜した。黒穂菌が感染した無性花変異体の雄蕊は、雄花と同様に発達していることがわかった。しかし、黒穂菌が感染した無性花変異体の雌蕊は、雄花と同様に抑制されたままであった。雄蕊の発達の抑制は黒穂菌によって解除されるが、雌蕊の発達抑制は解除されないことが明らかになった。さらに、黒穂菌が感染することで形成された葯の内部がどのように分化するか調べた。黒穂菌が感染した雌花の葯では、胞源細胞から細胞が分化していなかった。黒穂菌が感染した無性花変異体の葯ではタペート細胞に異常が生じていた。雌花の葯は分化していなかったことから、葯の組織が分化するのに必須な遺伝子は Y 染色体上に存在し、無性花変異体の葯でタペート細胞が正常に発達しなかったことから、SPF 領域の近傍にはタペート細胞の分化に関与する遺伝子が存在することが示唆された。

第 3 章では、電顕 3D 法を用いて葯に存在している黒穂菌と、その周囲の細胞の状態について述べられている。黒穂菌が初めから葯に分化する領域に存在しているのか、そ

れとも雄蕊が分化してから葯へと侵入しているのか明らかにするために、黒穂菌が感染した雄花の花糸において、レクチン染色を実施した。花糸が形成されている花の発達段階のステージ 9 から 12 までのすべてにおいて、花糸に菌糸が観察された。このことから、黒穂菌は花糸が形成される前に、すでに葯へ侵入していると考えられる。そこで、パラフィンを用いた組織切片と菌を特異的に染色するグロコット染色を用いて、葯が形成されて間もない花の発達ステージ 7 (葯の発達ステージ III) の葯で黒穂菌の菌糸が観察されるか調べた。その結果、葯隔で黒穂菌の菌糸が観察された。このことから、花の発達段階のステージ 7 (葯の発達ステージ III) には、葯に黒穂菌が侵入しており、後期のステージでも菌糸が花糸を通して葯へと侵入していると考えられる。さらに、電顕 3D 法により葯の組織と黒穂菌の存在する位置の関係をより明確にし、黒穂菌が周囲の細胞に与える影響を調べることにした。黒穂菌は、細胞と細胞の間に存在することがわかった。黒穂菌はタペート細胞と中間層の間に存在するものと、表皮と内皮の間に存在するものでは形態が異なっていた。黒穂菌の感染により、タペート細胞や花粉母細胞では、細胞壁の厚い黒穂菌の近くで細胞壁の崩壊が見られた。黒穂菌の感染により、中間層と内皮でもネクロシス様の細胞死を起こしていたが、細胞壁が厚いため細胞質の溶出は見られないことを明らかにした。

なお、本論文第 1 章、第 2 章、ならびに第 3 章は山中香、小泉綾子、平田愛子、河野重行との共同研究である。それぞれ、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。

以上 1983 字