

陸上植物進化の初期に分岐したと考えられているコケ植物と、維管束植物進化の初期に分岐したと考えられている小葉類は、それぞれ特異的な形態を示す系統群であり、その形態形成の分子機構は興味深いテーマである。本論文では、コケ植物や小葉類がどのような遺伝的変化により特異的な形態を持つに至ったかを解明する手がかりとして、特に遺伝子重複という現象に注目した。その上で、遺伝子ファミリーの系統樹に基づき、形態進化に関連する候補遺伝子を特定・解析するという方法を採用して研究を行った。

本論文は5章からなる。第1章では、これまで行われてきた陸上植物の多様化に関する系統学的研究を整理し、従来の研究の問題点から本論文での研究の方向性を検討した。その結果、研究が進展している被子植物において機能が既知遺伝子の遺伝子ファミリーについて、陸上植物全体で遺伝子系統樹を構築して各系統群におけるオルソログ遺伝子を同定し、その遺伝子の機能解析を行うという手法が有効であろうと提案した。そして、植物の基本体制に重要な影響があると推定される遺伝子群である、茎頂分裂組織の維持に重要な Class 1 *KNOX* 遺伝子と、オーキシンの極性輸送を担い様々な形態形成に関与する *PIN* 遺伝子に注目して、初期に分化した陸上植物におけるそれらの遺伝子の機能解析を研究対象に設定した。また、初期に分化した陸上植物の遺伝子機能解析において、系統樹に基づく研究方法論の有効性検証も本論文の目的に加えた。

第2章では小葉類に特有の担根体についての解析を行っている。担根体は、茎に似た軸状器官であるが葉をつけず先端から根を生じる。担根体は、根の一部であるとする地上根説と、特別な器官であるとする担根体説の間で議論が長く続けられたが、形態形成過程の研究からは担根体説が有力視されている。担根体説の検証のために、茎頂分裂組織で特異的に発現することが知られているシロイヌナズナの *STM* の相同遺伝子 (Class 1 *KNOX* 遺伝子) の解析を小葉類のコンテリクマゴケで行った。*KNOX* 遺伝子ファミリーに属する遺伝子を2つ単離し (*SuKNOX1*、*SuKNOX2*)、これら遺伝子を含め陸上植物の *KNOX* 遺伝子ファミリーの最尤系統樹を作成した結果、*SuKNOX1* が Class 1 *KNOX* 遺伝子に属することが示された。発現解析の結果、*SuKNOX1* は根では検出されず、茎頂と担根体先端でのみ特異的に検出された。担根体は根とは異なる発生機構を持つと考えられ、担根体説を支持する分子レベルの根拠を示すことに成功した。

第3章では、コケ植物を中心に *PIN* 遺伝子の単離と陸上植物 *PIN* 遺伝子ファミリーの分子系統解析を行った。まず、ヒメツリガネゴケと単細胞藻類のヒメミカヅキモより、*PIN* 遺伝子 (*PhypaPIN* と *Cps1cPIN*) を新たに単離した。さらに、これまで報告例のなかった裸子植物のイチョウとクロマツからも *PIN* 遺伝子を単離した。ヒメミカヅキモの *Cps1cPIN* を外群に用いて陸上植物の *PIN* 遺伝子ファミリーの最尤系統樹を構築したが、系統樹の解像度が低くグループ間の系統関係は結

論が出なかった。そこで、各遺伝子の産物で重要な働きを持つと考えられているアミノ酸モチーフの比較を行い、いくつかの共有派生形質を同定した。主要なモチーフの共有を加えて解像度を高くした系統樹においては、陸上植物の *PIN* 遺伝子ファミリーが、陸上植物の全ての分類群を含むコアグループ、その基部に位置する基部グループ、コケ植物特異的グループの3つに大別できることが明らかになった。*PhypaPIND* は他の3個の *PhypaPIN* とは異なり、コケ植物特異的グループに属することが明らかになった。また、このグループは系統樹の基部に位置することから、*PhypaPIND* はコケ特異的な機能に関わる可能性が推測された。

第4章では、第3章の結果からコケ特異的機能を持つと推定された *PhypaPIND* の機能解析を行っている。この遺伝子の発現解析の結果、*PhypaPIND* は孢子体成熟期において孢子体と茎葉体茎頂で強く発現していた。機能解析のため作出した *PhypaPIND* 遺伝子欠損株では表面的な形態異常は検出されなかったが、孢子体と茎葉体の合着が弱くなる個体の出現頻度が増加した。さらに SEM 観察では、欠損株は茎葉体と合着している孢子体フットの細胞表面がやや滑らかであった。以上の結果から、*PhypaPIND* は孢子体の茎葉体への従属に関わる可能性が示された。さらに、オーキシンに応答して GUS 活性を示す GH3:GUS 株において *PhypaPIND* 遺伝子欠損株を作出した結果、孢子体が合着する茎葉体の *vaginula* 組織の一部において GUS 染色特性に変化が生じた。これは、*PhypaPIND* がオーキシン輸送に関わる可能性を示すとともに、*PIN* を介したオーキシンの分子メカニズムがコケ植物の段階で既に成立していたことを示唆するものである。

第5章は総合考察で、第2～4章において提示した結果と考察から、系統樹に基づく研究方法の有効性について議論を行っている。本論文で採用された、遺伝子ファミリーの系統樹に基づいて遺伝子の機能を解明するという方法論は、機能既知遺伝子に基づいた機能遺伝子の選択のみならず、系統群固有の機能遺伝子の候補選択においても有効であることを示すことができた。本論文では、特にこれまであまり遺伝子の機能解析が行われてこなかった植物の系統群において、系統樹に基づく手法が有効であることを示すのに成功しており、陸上植物の進化遺伝学的研究の発展に大きく貢献したと判断される。以上のことから本審査委員会は博士(学術)の学位を授与するにふさわしいものとして認定する。