

# 論文審査の結果の要旨

氏名 久保 文香

本論文は5章からなる。第1章に序論、第2章に研究の結果、第3章に考察、第4章に材料と方法、第5章に結びが記されている。

被子植物の形態は非常に多様であり、特に単子葉類の形態は、葉が平行脈をもつことと特有な花や花序を生じることなど、真正双子葉類と較べると大きく異なっている。被子植物の発生を制御する機構については、真正双子葉類のモデル植物であるシロイヌナズナを用いて分子レベルで多くの理解が得られているのに対し、単子葉類の発生・形態形成に関する理解は遅れていると言わざるを得ない。本論文において、論文提出者は、単子葉類のモデル植物であるイネ (*Oryza sativa*) を研究材料とし、葉や花序の発生・形態形成に関わる重要な遺伝子を見だし、その機能の解明を行い、重要な知見を得た。

第1章の序論では、まず、シュート頂メリステムの機能から被子植物の一般的な形態形成を概説している。次に、イネの葉や稈（茎）、花序などの形態的特徴とその形態形成を制御する遺伝子のはたらきに関する知見がまとめられている。つづいて、ヒストンのアセチル化を介したエピジェネティックな制御が真核生物の遺伝子発現制御に重要であることを述べるとともに、被子植物のヒストンの脱アセチル化酵素 (histone deacetylase, HDAC) をコードする遺伝子の種類と機能について、詳細な解説がなされている。この背景のもとに、本研究の目的として、多面的な形態異常を示す *dwarf with slender leaf 1 (dsl1)* 変異体を活用してイネの発生・形態形成機構の解明を目指したこと、および、その研究結果の概要が述べられている。

第2章では、*dsl1* 変異体の詳細な表現型解析、*dsl1* 変異の原因となる遺伝子の同定とその検証、および、その遺伝子の特徴の順に、それぞれの研究結果が記述されている。前半は、*dsl1*の発生遺伝学的研究の結果について述べられている。まず、*dsl1* 変異体の葉の形態学的特徴を記載するとともに、組織学的解析を行い、細胞数の減少が葉の形態異常の要因のひとつであることを明らかにした。また、細胞周期に関わる遺伝子を用いて、葉原基で実際に細胞分裂活性が低下していることを示した。*dsl1* 変異体は、矮性という表現型を示すが、その原因が稈の節間伸長の不全であることを示すとともに、*dsl1*の節間伸長パターンがこれまで報告されているどのタイプにも属さないことを述べている。さらに、花序や小穂（花）の形態を調べた結果、小さな花序の

原因が、花序やブランチメリステムの機能低下に起因していることを推定している。最後に、*dsl1*変異体はほとんど種子を形成せず不稔となること、その原因が、花粉が正常に形成されないことに起因していることを明らかにした。

後半では、*dsl1*変異の原因となる遺伝子の単離・同定について述べられている。マッピングと全塩基配列の結果、*DSL1*遺伝子はヒストン脱アセチル化酵素をコードしていることを明らかにした。さらに、野生型においてCRISPR-CAS9法により*DSL1*遺伝子の機能を破壊すると*dsl1*変異体と同じ表現型が生じることを示し、遺伝子同定の結果を確認した。さらに、他の植物との比較から、数多く存在するHDAC遺伝子の中で、*DSL1*遺伝子はReduced potassium dependence3/Histone Deacetylase1 (RPD3/HDA1) familyの class I に属することなどが説明されている。

第3章では、得られた結果をもとに、単一の遺伝子の欠損により、なぜ上記のような多面的な形態異常が起こるのかを考察している。まず、ヒストンの脱アセチル化は多くの遺伝子の発現抑制に関わるので、この*DSL1*遺伝子の機能不全によりその抑制が部分的に損なわれるため、本来抑制されている多くの遺伝子が異時的・異所的に機能するため、結果で述べたような多面的な形態異常が起こることを考察している。さらに、イネの形態形成に関わるこれまでの知見をもとに、*dsl1*変異体の形態異常を考察するとともに、他の植物のHDAC遺伝子の機能と*DSL1*との類似性などについても考察を加えている。

第4章では、本研究に用いた分子生物学的実験の方法や遺伝子単離の手順等について説明している。

第5章では、結びとして、本研究の成果の概要と意義や今後の研究の展望が示されている。

これらの研究内容は、論文提出者が第一著者とした論文として執筆し、印刷公表の予定である。本研究により得られた知見は、研究対象のイネの形態形成機構の解明のみにとどまらず、高等植物全般に共通するエピジェネティック制御と形態形成の理解に貢献するものであり、学術上、極めて高い価値をもつものと考えられる。

なお、本論文は、安居佑季子、大森良弘、熊丸敏行、田中若奈および平野博之氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、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（理学）の学位を授与できると認める。