

## 審査の結果の要旨

氏 名 肖 華

本論文はイネ種子へのカドミウム蓄積に影響を及ぼす遺伝子のゲノムワイド関連解析を通じた同定とその特徴について研究を行ったもので、序論に続く2つの章、およびまとめから成る。

序論では食料安全におけるカドミウムの汚染の過去の事例や現状、イネにおけるカドミウムの蓄積や輸送の研究の現状について概説されている。また、本研究で使われたゲノムワイド関連解析の原理や適用例について述べている。

第一章では多系統のイネ種子のカドミウム濃度を用いたゲノムワイド関連解析によって、カドミウム蓄積との関連が推定されていた *OsMCR1* についての研究を行っている。*OsMCR1* は MATE と呼ばれる一群の輸送体遺伝子ファミリーに属しており、MATE には無機イオンの輸送活性が報告されているものも含まれていたことから、カドミウム輸送への関与が考えられた。

本章ではまず、*OsMCR1* がイネ種子のカドミウム蓄積を制御する遺伝子かどうかを分子遺伝学的に確認している。CRISPR/Cas9 を用いて *OsMCR1* に変異を持つ独立な変異株 4 系統を作出、カドミウムを含む土壌で栽培し、それらの系統の種子におけるカドミウム濃度を測定したところ、いずれの系統でも野生型株よりカドミウム濃度が低下していることを示した。この結果をもとに、*OsMCR1* がイネ種子のカドミウム蓄積を制御する遺伝子であることを結論づけている。

一方でイネ個体の穂軸節やその下部の節のカドミウム濃度には変異型株と野生型株で違いが見られなかったことから、*OsMCR1* がイネ体内のカドミウム分布に影響を与えている可能性を示唆している。幼植物を、カドミウムを含む培地で栽培したところ、変異型株では根や若い葉の葉鞘でカドミウム濃度が低下していたと報告している。さらに *OsMCR1* のカドミウム輸送活性を調べるために酵母で発現させ、カドミウムを含む培地で培養した後の酵母のカドミウム濃度を測定している。その結果、*OsMCR1* の発現によってカドミウム濃度が高まったことから輸送活性があると結論づけている。また、*OsMCR1* をシロイヌナズナにおいて過剰発現させると培地中のカドミウムに対する感受性が高まり、野生型株に比べてより低濃度のカドミウムで生育抑制が観察されることを報告してい

る。さらに OsMCR1 の細胞内局在を推定するために GFP との融合タンパク質をイネのプロトプラストで発現させたところ、細胞膜と細胞内小器官に蛍光が観察されたことを報告しており、OsMCR1 の主な細胞内局在は細胞膜であると推定している。

これらの結果から、OsMCR1 は主に細胞膜に局在する新規のカドミウム輸送体であり、種子を含めたイネ体内のカドミウム分布に影響を及ぼすことを結論づけている。

第二章では同様にゲノムワイド関連解析によって種子へのカドミウム蓄積への関与が推定された OsHIPP20 の解析を行なっている。CRISPR /Cas9 を用いて *OsHIPP20* に変異を持つ独立な変異株を 2 株取得し、カドミウムを含む土壌で栽培し種子のカドミウム濃度を測定したところ、濃度低下が見られたことを報告している。さらに *Tos17* 挿入変異株でも同様の現象が見られたこと、幼植物でもカドミウム濃度に差が見られること、GFP との融合タンパク質が核に存在することなどを報告しており、*OsHIPP20* がイネのカドミウム輸送を制御する新規遺伝子であることを結論づけている。

まとめでは、本論文によりイネのカドミウム蓄積を制御する新たな二つの遺伝子が同定されたこと、また、これら遺伝子を用いた今後の応用の可能性について言及されている。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。