

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 都筑正行

論文提出者は、植物が形態形成をしながら、子孫を残していく過程のなかで起こる遺伝子の発現制御現象に着目した。従来シロイヌナズナをモデル植物としてさまざまな研究が蓄積してきた。しかしシロイヌナズナには機能的に重複した重要な遺伝子が多いことで、解析をする上で障壁となっていた。今回、論文提出者は陸上植物として基部の名残を残し遺伝子構成の単純さを保持していると考えられるゼニゴケ(*Marchantia polymorpha*)を用いて、制御現象の解析を試みた。本論文は遺伝子の発現制御分子であるマイクロRNA(miRNA)を中心に小分子 RNA の解析を行い、その機能についての研究成果をまとめたものである。

第一章ではまずゼニゴケの全ゲノム配列のなかに、小分子 RNA に関係することが知られている Dicer-like、Argonaute と相同なタンパク質がコードされていることを見いだした。実際にゼニゴケから精製した RNA をもちいてノーザンハイブリダイゼーション、小分子 RNA 画分を用いた RNA シークエンシングを行い、ゼニゴケ(タイ類)の葉状体、雄器床、雌器床で発現する小分子 RNA の全貌を明らかにした。その結果、ヒメツリカネゴケ(セン類)と共通な miRNA が 3 種あったが、200 を越える大半の miRNA はゼニゴケ特異的なものが多いことが明らかとなった。保存性の高かった miRNA に関連して、想定される標的 mRNA となり得る候補をゲノム配列から検索し、実際にゼニゴケ体内で miRNA による認識を受けたことによる切断断片を検出することにも成功した。ゼニゴケは miRNA、および標的遺伝子の重複が極めて少ないことも明らかになり、miRNA による遺伝子制御の最も基本的な形を保持していることが推測される。

第二章では第一章で見いだされた保存性の高い miRNA に注目してその生物学的機能に迫った。ゼニゴケへの遺伝子導入によって、miRNA 過剰発現体の作出、および近年急速に技術が発展している CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集を行い、保存度の高い miRNA のみを狙って変異体を作出した。miRNA の機能が欠失した変異体は、葉状体の重篤な形態異常を引き起こしたものや、生殖成長期への移行を抑制できなくなったものが得られた。この miRNA による生殖成長期への移行はシロイヌナズナにおいて明らかになっている結果と相同なものであり、miRNA の普遍的な役割を示唆するものであった。

本研究から miRNA による遺伝子制御は陸上植物の進化とともに複雑化していったこと、さらに保存された miRNA は進化上の基部に位置するゼニゴケでも重要な役割を持つことが強く示唆された。このようにゼニゴケの遺伝子編集を用いて初めて示したといえる miRNA の役割の進化上の相同性という知見も新たな発見である。このように本研究は植物分子生物学・比較進化学研究分野において大きく貢献する研究成果である。

なお、以上の研究成果は、論文提出者が主体となって行ったもので、論文提出者の寄与

## 別紙 2

が十分であると判断する。したがって、博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。