

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 HWANG Dukhyun
学位 博士 (理学)
学位記番号 新大院博 (理) 第 451 号
学位授与の日付 令和 2 年 3 月 23 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 Female gametophyte-specific gene induction system: Development and application to analyses of female gametogenesis in *Arabidopsis thaliana*
(雌性配偶体特異的遺伝子発現誘導系: 開発とシロイヌナズナ雌性配偶体形成過程の解析への応用)

論文審査委員 主査 教授・西川 周一
副査 教授・酒井 達也
副査 准教授・杉本 健吉
副査 准教授・加藤 朗

博士論文の要旨

被子植物の受精の過程は、雄しべから放出された花粉が雌しべの柱頭部分に付着することから始まる。花粉は発芽して花粉管を雌しべ内で伸ばす。花粉管が雌しべの胚珠中に存在する雌性配偶体に到達すると受精がおこる。植物の雌性配偶体は半数体世代の個体であり、有性生殖の過程で必須な役割をはたしている。シロイヌナズナを含む被子植物の多くに見られる *Polygonum* 型の雌性配偶体は卵細胞、2 個の助細胞、中央細胞と 3 個の反足細胞の 7 細胞で構成される。雌性配偶体の形成や機能に必要な遺伝子の働きについては、突然変異株の解析などによって明らかにされてきた。植物では同じ機能を持つ遺伝子の重複が頻繁に見られるが、遺伝子機能の解析のために重複した遺伝子の機能をすべて失わせるための変異体を作製することには限界があった。

本論文では、雌性配偶体を用いた遺伝子機能解析の新たな実験系として、雌性配偶体特異的な遺伝子発現誘導系を構築した。また、構築した実験系を用いて、雌性配偶体形成過程での遺伝子の機能解析が可能であることを示した。本論文の内容は以下のとおりである。

1) 雌性配偶体特異的遺伝子発現誘導系の構築

熱ショックによる *Cre/loxP* 部位特異的遺伝子組換えの誘導と、雌性配偶体特異的プロモーターを組み合わせることで、遺伝子発現誘導実験系を作製した。ミトコンドリア局在型 GFP を標的遺伝子として用いて、作製した実験系の評価を行った。この結果、花序や雌しべを 35°C で 5 分間という温和な条件で処理することで、効率良い標的遺伝子の発現誘導が可能であることを示した。

2) 遺伝子発現誘導実験系を用いた遺伝子機能の解析

構築した遺伝子発現誘導実験系を用いて、雌性配偶体形成過程での遺伝子機能の解析を行った。雌性配偶体形成過程で観察される極核融合 (細胞核の融合) を対象に、核内膜の SUN タンパク質のこの過程への関与を検討した。SUN タンパク質に関する優性欠損変異体 (SUNDN) の発現誘導系を作製し、形成過程の雌性配偶体で SUNDN の発現を誘導すると極核融合が阻害されることを示した。SUN タンパク質は核外膜の KASH タンパク質

と複合体を形成して機能するが、極核融合には SUN タンパク質と KASH タンパク質との相互作用が必要であることを示した。これらの結果は、構築した遺伝子発現誘導系が雌性配偶体形成過程の遺伝子機能の解析に利用できることを示している。また、核融合過程にあずかる新たな因子として、SUN タンパク質と KASH タンパク質を明らかにした。

審査結果の要旨

本論文では、雌性配偶体を用いた遺伝子発現誘導実験系の構築と、これを用いた雌性配偶体における遺伝子機能解析が行われた。本論文で構築した遺伝子発現誘導系は、非誘導条件では発現を完全にシャットオフし、温和な条件で効率良い発現誘導が可能という優れた特性を持っている。この実験系を用いることで、植物生殖過程の核融合における SUN タンパク質の関与を初めて示すことに成功した。以上の結果は、植物生殖の分子機構に新たな知見を提供するものであり、基礎理学の研究として評価される内容である。

シロイヌナズナでは SUN タンパク質は複数の遺伝子にコードされている。このような機能が重複した遺伝子の解析において、本研究の実験系は大きな役割をはたすと考えられる。また、この発現誘導系は、雌性配偶体だけでなく、植物の様々な組織や細胞特異的な遺伝子機能解析系の構築へも応用できると期待される。

本論文の内容は、申請者を筆頭著者とする以下の論文に掲載済みである。

Dukhyun Hwang, Satomi Wada, Azusa Takahashi, Hiroko Urawa, Yasuhiro Kamei, and Shuh-ichi Nishikawa (2019) Development of a Heat-Inducible Gene Expression System Using Female Gametophytes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology* 60 (11) 2564-2572

以上のことから、本論文は博士（理学）の博士論文として十分であると認定した。