

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ストレプト藻類Klebsormidium nitensにおけるオーキシン応答遺伝子の発現制御に関わる転写因子の研究
Title(English)	
著者(和文)	唐司典明
Author(English)	Noriaki Tounosu
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12514号, 授与年月日:2023年9月22日, 学位の種類:課程博士, 審査員:下嶋 美恵,本郷 裕一,増田 真二,吉田 啓亮,加藤 明,太田 啓之
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12514号, Conferred date:2023/9/22, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： 博士 Academic Degree Requested Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	唐司 典明		審査員主査： Chief Examiner	下嶋 美恵

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

オーキシンは植物の発生や環境適応等の様々な生理学的プロセスに関わる植物ホルモンである。オーキシンのシグナル伝達を担う分子機構については、シロイヌナズナやイネなど種子植物を用いた研究によって多くのことが明らかにされてきた。種子植物における主要なオーキシンシグナル伝達はオーキシン受容体である Transport Inhibitor Response 1/Auxin Signaling F-box (TIR1/AFB) とオーキシンが結合することによって開始する。オーキシンと結合した TIR1/AFB は、オーキシン応答の負の調節因子である Auxin/Indole-3-Acetic Acid (Aux/IAA) と相互作用し、ユビキチン-プロテソーム系による Aux/IAA の分解を誘導する。Aux/IAA は Auxin Responsive Factor (ARF) 転写因子と相互作用することにより、ARF の標的であるオーキシン応答遺伝子の転写を抑制しているが、Aux/IAA の分解によって、ARF が遊離し、オーキシン応答が誘導される。

コケ植物を含む陸上植物における比較ゲノム解析によって、このような TIR1/AFB を介したオーキシンシグナル伝達に関わる因子は陸上植物に広く保存されていることが明らかになった。したがって、TIR1/AFB を介したオーキシンシグナル伝達の分子基盤は陸上植物の分岐以前に確立されたと考えられるが、陸上植物以前に分岐した藻類において *TIR1/AFB* 遺伝子は発見されておらず、藻類におけるオーキシンシグナル伝達機構についてはその多くが未解明である。

この藻類から陸上植物のオーキシンシグナル伝達機構が出現した過程を明らかにするために、当研究室では陸上植物の側系統群であるストレプト藻類の 1 つである *Klebsormidium nitens* の解析を行ってきた。これまでに、*K. nitens* が *TIR1/AFB* 遺伝子を獲得していないにも関わらず、オーキシン処理によって、細胞増殖が抑制され、多数の遺伝子の発現が誘導されることを報告している (Ohtaka et al. 2017)。また B3 ドメイン転写因子 ABI3 の結合配列である RY モチーフ (TGCATG) が、オーキシン応答遺伝子のプロモーター領域に高頻度で存在し、*Nicotiana benthamiana* における一過的発現系を用いた B3 ドメイン転写因子のスクリーニングによって、オーキシン応答遺伝子 *KnLBD1* のプロモーター配列を介した発現誘導に関わる KnRAV 転写因子を同定した (瀬底、平成 30 年度修士論文)。

本研究では、*K. nitens* におけるオーキシンシグナル伝達機構をより詳細に明らかにするため、KnRAV を含めたオーキシン誘導性遺伝子発現に関わる転写因子のさらなる解析を行った。

N. benthamiana における GUS/LUC 解析と *in vitro* DNA 結合解析の結果、KnRAV 転写因子は、*in silico* 解析により推定されていた RY モチーフではなく、CCTG を含む複数の配列モチーフに結合する事で、*KnLBD1* プロモーターを介した発現誘導に関わることが示された。また、KnRAV が *KnLBD1* 以外のオーキシン応答遺伝子の発現誘導にも関わっているかどうか明らかにするため、CAGE-seq 及び RT-qPCR を用いた遺伝子発現解析を行った。その結果、1 時間のオーキシン処理によっても顕著に発現上昇するオーキシンの初期応答遺伝子を複数見出し、これらの発現に KnRAV が関与する可能性をプロモーター解析により示した。

さらに、オーキシンの初期応答遺伝子のプロモーター領域におけるモチーフ解析の結果、陸上植物において一部の bZIP ドメイン転写因子の結合配列として知られる DNA モチーフがオーキシン初期応答遺伝子のプロモーター領域に高頻度で存在することが示された。そこで、当該 DNA モチーフに対する結合が予想された *K. nitens* に存在する 2 つの bZIP ドメイン転写因子について、プロモーター解析を行った。その結果、どちらの bZIP ドメイン転写因子も、*KnLBD1* 等のオーキシン初期応答遺伝子の転写活性を顕著に促進することが示された。したがって、*K. nitens* におけるオーキシン誘導性の遺伝子発現が KnRAV や、本研究において同定した 2 つの bZIP ドメイン転写因子を含む複数の転写因子に関わる機構によって制御されている可能性が示された。このことから、陸上植物の主要なオーキシン応答機構である TIR1/AFB を介したオーキシンシグナル伝達機構が出現する以前に、ストレプト藻類では TIR/AFB 非依存性の複雑なオーキシンシグナル伝達機構が発達していた可能性が示唆された。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)

Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	唐司 典明		審査員主査： Chief Examiner	下嶋 美恵	

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Auxin is an important signaling molecule involved in various physiological processes in land plants. Auxin signaling mediated by TIR1/AFB, a pivotal auxin receptor, is the ubiquitously conserved pathway in land plants. Meanwhile several studies have reported auxin effects in algae which encompass no TIR1/AFB homologue. However, the molecular mechanisms underlying those TIR1/AFB-independent auxin responses are still unclear. Ohtaka et al. 2017 reported that exogenous auxin suppresses cell proliferation in *Klebsormidium nitens*, a member of streptophyte algae which is a paraphyletic group of land plants. Their study also showed that auxin changes gene expression in *K. nitens*, suggesting that a primitive auxin signaling may regulate the gene expression. Moreover, it was revealed the enrichment of the RY motif in the promoter regions of auxin-upregulated genes (Sesoko, K., 2018 Master's thesis). This RY motif is recognized as the binding sequence for some B3-domain transcription factors, such as ABI3. Their screening for B3 domain transcription factors in *K. nitens* demonstrated that a KnRAV transcription factor can enhance the gene expression via a promoter sequence of *KnLBD1*, a representative auxin responsive gene.

In this study, I aimed to further clarify the machinery of auxin signaling in *K. nitens*. The promoter assay using transient expression system in *Nicotiana benthamiana* and *in vitro* DNA binding assay demonstrated that KnRAV can directly bind to *KnLBD1* promoter and enhance its expression. Next, gene expression analysis with CAGE-seq and RT-qPCR identified genes upregulated within one hour after auxin treatment. As with *KnLBD1*, the promoter assay in *N. benthamiana* showed that two of these auxin-upregulated genes promoters were also significantly enhanced by KnRAV. In addition, based on the enriched motifs in the promoter sequences of the auxin-upregulated genes in the CAGE-seq, I newly identified two bZIP transcription factors related to induction of the auxin-upregulated genes in *K. nitens*. These results suggest that auxin-mediated gene expression in *K. nitens* is controlled by a complex mechanism involving multiple transcription factors, including KnRAV.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).