

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	車軸藻植物門クレブソルミディウムにおけるオーキシン応答に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	大高きぬ香
Author(English)	Kinuka Ohtaka
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10613号, 授与年月日:2017年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:太田 啓之,久堀 徹,田中 寛,若林 憲一,増田 真二,下嶋 美恵
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10613号, Conferred date:2017/9/20, 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

専攻:	生体システム	専攻	申請学位 (専攻分野):	博士	(理学)
Department of			Academic Degree Requested	Doctor of	
学生氏名:	大高 きぬ香		指導教員 (主):	太田 啓之 教授	
Student's Name			Academic Supervisor(main)		
			指導教員 (副):	増田 真二 准教授	
			Academic Supervisor (sub)		

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

オーキシンは、陸上植物の生育や発達を多岐に渡って制御する植物ホルモンである。このオーキシン応答機構の進化は、陸上植物の複雑な組織分化を生み出し、多様な形態や器官の形成を可能にしたと考えられている。しかし陸上植物にみられるオーキシン応答機構が、いつどのように獲得されたかは明らかではない。そこで、オーキシン応答機構の起源や進化を解明するために車軸藻植物門が現在着目されている。車軸藻植物門はその細胞分裂様式や遺伝子系統解析により他の藻類より陸上植物に近い多系統群であることが示されており、陸上植物は車軸藻植物門から派生したと考えられている。その車軸藻植物門の中で *Klebsormidium* は、比較的初期に分岐し、糸状の単純な形態を持つ。さらに陸上環境に適応した気生藻類であり、水中および陸上の乾燥・貧栄養環境下でも生育が可能である。 *Klebsormidium nitens* NIES-2285 株 (2016 年 6 月に *K. flaccidum* より再同定) は、陸上進出に関与する遺伝子の同定と機能解析を行うために、2014 年に当研究室においてドラフトゲノム配列が解読された (Hori et al., 2014)。 *K. nitens* は陸上植物における主要なオーキシシンシグナル伝達因子を持たないものの、いくつかのオーキシン応答に関わる遺伝子を既に獲得していることが明らかとなった。またホルモノーム解析により、オーキシン (Indole-3-acetic acid: IAA) を初めとする植物ホルモンが実際に検出され、 *K. nitens* は原始的なオーキシン応答を獲得していることが期待された。そこで、私は、 *K. nitens* NIES-2285 におけるオーキシンの作用と応答を解析することで、オーキシン応答機構の起源や役割の解明を目指した。

ゲノム解析より *K. nitens* は、オーキシン排出輸送体である PIN のホモログや、陸上植物における主要なオーキシン生合成経路の構成因子 YUCCA ホモログを保持していることが明らかとなっている。そこで、オーキシン、オーキシン輸送阻害剤およびオーキシン合成阻害剤 (YUCCA 阻害剤) の処理が、 *K. nitens* の生育に与える効果を解析した。その結果、オーキシンやオーキシン輸送阻害剤、オーキシン合成阻害剤は *K. nitens* の生育を阻害することが明らかとなった。さらにオーキシンやこれらの阻害剤が細胞分裂と細胞伸長にどのように影響するかより詳細に解析するため、細胞壁を染色するカルコフローホワイト (Fluorescent brightener 28) を用いて、細胞分裂や細胞伸長を詳細に解析する手法を確立し、解析を行った。その結果 IAA の処理は、 *K. nitens* の細胞分裂と細胞伸長の双方を抑制することが明らかとなった。また、PIN の細胞膜への局在を阻害する TIBA も細胞分裂および細胞伸長を抑制した。この結果から、PIN ホモログを介したオーキシン輸送は、 *K. nitens* における細胞伸長や分裂の制御に関与していると考えられる。さらに YUCCA の阻害剤である BBo の処理は、細胞分裂に大きな影響を与えないが、細胞伸長に対して抑制効果を示した。IAA や TIBA の処理では細胞分裂と細胞伸長の双方を阻害したが、BBo は細胞伸長のみを阻害したことから、YUCCA を介して合成されたオーキシンは細胞伸長に強く寄与している可能性が示唆された。以上の結果より *K. nitens* においてオーキシンは細胞分裂や伸長を制御している可能性が示唆された。陸上植物では生育において、根や茎などそれぞれの器官ごとによってオーキシンの適切な濃度は異なると考えられている。本研究から、IAA 生合成阻害剤、もしくは IAA の添加どちらにおいても、細胞伸長を抑制したことから、 *K. nitens* の正常な細胞伸長には適切なオーキシン濃度が必要である事が示唆された。

また IAA 処理後のトランスクリプトーム解析から、陸上植物において側根の形成に関与する転写因子として知られている、LATERAL ORGAN BOUNDARIES-DOMAIN ホモログ (*KnLBD1*) の発現が早期に誘導されることを見出した。 *KnLBD1* は IAA と翻訳阻害剤である CHX を同時に投与しても発現が誘導されたことから、タンパク質の翻訳を介さずに発現が調節されることが示された。また、IAA は *K. nitens* の細胞伸長に影響を与えたことから、細胞壁関連遺伝子の発現変動を解析した。その結果、IAA の処理は細胞壁の合成、伸長に関わる遺伝子にも影響を与え、IAA がこれらの遺伝子発現を制御することによって細胞伸長を調節している可能性が示唆された。

以上により、*K. nitens* は、陸上植物における主要なオーキシシグナル伝達因子を持たないにも関わらず、オーキシンによる転写応答が誘導され、細胞壁の形成に関連が期待される遺伝子が制御されることを示した。また *K. nitens* は陸上植物においてオーキシンの極性輸送を担う PIN を獲得しており、細胞の伸長、分裂の制御に関わることを示した。さらにオーキシン合成酵素 YUCCA を介したオーキシン合成が、*K. nitens* の細胞伸長に寄与している可能性が示唆された。以上により、*K. nitens* は陸上植物にみられるオーキシン応答機構の一部を既に獲得していると考えられた。

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

専攻：	生体システム	専攻
Department of		
学生氏名：	大高 きぬ香	
Student's Name		

申請学位 (専攻分野)：	博士	(理学)
Academic Degree Requested	Doctor of	
指導教員 (主)：	太田 啓之	
Academic Supervisor(main)		
指導教員 (副)：	増田 真二	
Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

The phytohormone auxin regulates many aspects of growth and development in land plants, but the origin and evolution of auxin signaling and response mechanisms remain largely unknown. Indeed, it remains to be investigated whether auxin-related pathways diverged before the emergence of land plants. To address this knowledge deficit, we analyzed auxin responses in the charophyte alga *Klebsormidium nitens* NIES-2285, whose ancestor diverged from a green algal ancestor during the evolution of land plants. This strain is the same as *Klebsormidium flaccidum* NIES-2285, for which the draft genome was sequenced in 2014, and was taxonomically reclassified as *K. nitens*. This genome sequence revealed the presence of genes involved in auxin responses. Furthermore, the auxin indole-3-acetic acid (IAA) was detected in cultures of *K. nitens*, but *K. nitens* lacks the central regulators of the canonical auxin-signaling pathway found in land plants. Exogenous IAA inhibited cell division and cell elongation in *K. nitens*. Inhibitors of auxin biosynthesis and of polar auxin transport also inhibited cell division and elongation. Moreover, we tested for auxin mediated-regulation of gene expression by analyzing *K. nitens* transcriptome. As a results, exogenous IAA rapidly induced expression of a LATERAL ORGAN BOUNDARIES-DOMAIN transcription factor and affected on cell wall synthesis and elongation related genes. These results suggest that *K. nitens* has acquired a part of the auxin system that regulates transcription and cell growth without the requirement for the central players that govern auxin signaling in land plants.

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).