

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)	要約
Type(English)	Outline

・背景、目的

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藻類であり（気生藻類）、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、陸上進出に關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（図 1）。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。

—結果と考察—

クレブソルミディウムの生育に対するオーキシシンの効果

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。本研究では、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。そこでオー

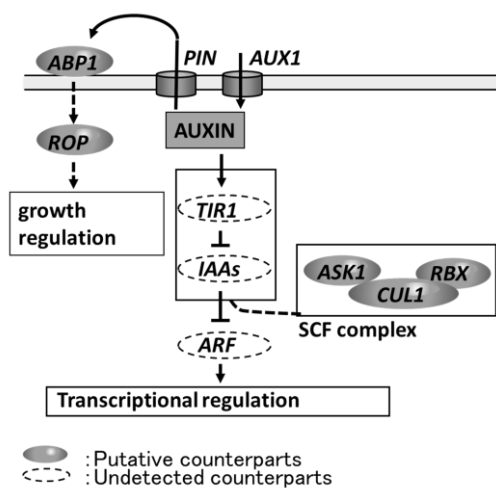


図 1. *K. nitens* における推定上のオーキシシンシグナル伝達経路

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。その結果天然オーキシシンである IAA 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 *K. nitens* の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シン輸送は、内生のオーキシシンレベルを調節することで、*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 を処理した結果、BBo 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。したがってオーキシシンの生合成の抑制は細胞伸長を抑制すると考えられる。本実験で用いた高濃度の外生 IAA の実験では細胞分裂と細胞伸長の両方を阻害していたが、BBo は *K. nitens* の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シンは細胞伸長に寄与している可能性が示唆された。以上の結果より内生オーキシ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る。また、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シンの適切な濃度は異なっていると考えられている。本研究から、IAA 生合成阻害剤、もしくは外生 IAA の添加どちらにおいても、*K. nitens* の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シン濃度が必要であると示唆された。

クレブソルミディウムにおけるオーキシシン応答遺伝子の解析

前項において IAA が *K. nitens* の細胞分裂と伸長を制御することが示唆され、*K. nitens* においても、オーキシシンを受容し下流へとシグナルを伝達する経路の存在が推察された。そこで、*K. nitens* のオーキシシンを介した遺伝子発現制御を明らかにするために、オーキシシン添加時におけるトランスクリプトーム解析を行った。その結果、IAA 処理によって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*) 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明らかとなった。*A. thaliana* では、いくつかの *LBD* 遺伝子は、陸上植物において主要なオーキシシンシグナル伝達経路 (Aux/IAA-ARF) を介してオーキシシンに応答し、側根形成を制御することが明らかにされている。*LBD* 遺伝子は他の藻類では見つからず、*K. nitens* と陸上植物に *LBD* 遺伝子が存在することから、*LBD* 遺伝子は *K. nitens* と陸上植物の共通祖先において獲得され、植物の陸上化後に多様化したと考えられる。しかし *K. nitens* は陸上植物でオーキシシン応答を引き起こす主要な転写因子である ARF を持っておらず、他の転写因子が *KnLBD1* を制御していると推察された。また、前項において示したようにオーキシシンは *K. nitens* の細胞伸長を制御していることが推察されたため、細胞壁関連遺伝子に着目した解析を行った。その結果、いくつかの細胞壁関連遺伝子が IAA の添加により発現が変動する事が示された。したがって、*K. nitens* においてオーキシシンシグナルは細胞壁の形成を

制御していることが示唆された。

—まとめ—

これらの結果から考察した、*K. nitens* におけるオーキシン応答機構の仮説を、図 2 に示す。本研究では、*K. nitens* においてオーキシンが細胞の分裂と伸長の制御に関わり、陸上植物で主要なオーキシシンシグナル伝達経路が存在しないにも関わらず、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

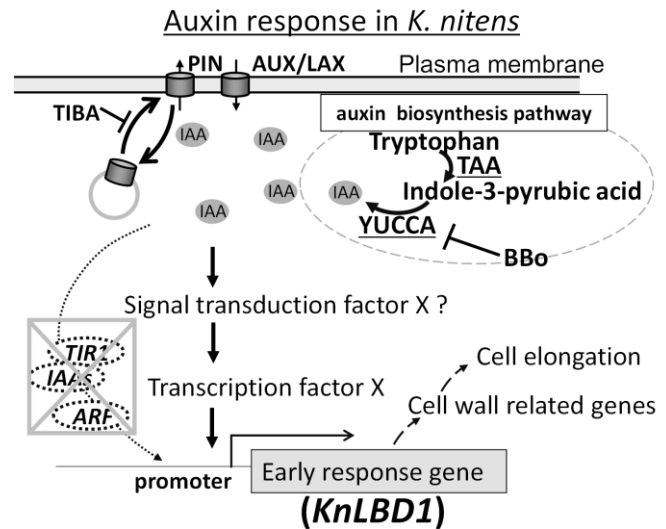


図 2. *K. nitens* におけるオーキシン応答機構のモデル図

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。これらのことから、*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ことが明らかとなった。

報文目録

Ohtaka K, Hori K, Kanno Y, Seo M, Ohta H (2017) Primitive Auxin Response without TIR1 and Aux/IAA in the Charophyte Alga Klebsormidium nitens. Plant Physiol 174: 1621-1632

参考論文

Hori K et al. (2014) Klebsormidium flaccidum genome reveals primary factors for plant terrestrial adaptation. Nat Commun 5: 3978.