

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	クレブソルミディウムおよびゼニゴケにおけるオリゴガラクト脂質合成に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	清水信介
Author(English)	Shinsuke Shimizu
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12834号, 授与年月日:2024年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:下嶋 美恵,本郷 裕一,増田 真二,加藤 明,吉田 啓亮,太田 啓之
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12834号, Conferred date:2024/9/20, 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

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	清水 信介		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)

植物の陸上進出は現在の生態系を形成する上で非常に重要なイベントであったと考えられる。しかしながら、陸上には水中とは異なり、強光や紫外線、低温などのストレスの他にも、塩ストレス・乾燥ストレス・凍結ストレスといった脱水ストレスが幅広く存在している。このようなストレス環境にどのように植物の祖先が適応していったのかは未だに不明である。 凍結耐性についての知見は陸上植物シロイヌナズナで多く蓄積されてきた。中でも、SFR2 (SENSITIVE TO FREEZING 2) は凍結時に trigalactosyldiacylglycerol (TGDG) というオリゴガラクト脂質を合成するのに必須な遺伝子であること、またシロイヌナズナ sfr2 欠損変異体は凍結後致死となることが知られている (Moellering et al., 2010)。さらに、トマトの SFR2 類似遺伝子のノックダウン体では塩または乾燥ストレスに感受性を持つようになり、またその際に TGDG を合成しないことも明らかになった (Wang et al., 2016)。そのため、SFR2 類似遺伝子は広く脱水ストレスに関わっているということが示唆されている。また凍結以外にも、シロイヌナズナのロゼッタ葉を有機酸溶液に浸すと TGDG が蓄積することが知られている (Barnes et al., 2016)。 そこで本研究では、陸上植物が出現する近い時期に分岐したと考えられるストレプト藻類である Klebsormidium nitens と、陸上植物進化の基部で分岐したと考えられる苔類 Marchantia polymorpha を材料として、脱水ストレス耐性とオリゴ糖脂質の関係性に着目して研究を行った。 まず、シロイヌナズナの SFR2 類似タンパク質であるクレブソルミディウムの KnGGGT1, 2, 3, また、ゼニゴケの MpGGGT1, 2 を、アミノ酸配列の相同性と系統樹解析から同定した。SFR2 と同じグループのものを KnGGGT1, MpGGGT1, 他のグループのものを KnGGGT2, 3, MpGGGT2 と表記することにした。クレブソルミディウム KnGGGT1, 2, 3 を GFP との融合タンパク質 (以下、KnGGGT-GFP と表記) としてベンサミアナタバコ葉で一過的に発現させたが、TGDG の合成は GGGT 活性化条件 (酢酸処理) においても有意に検出できなかった。また、シロイヌナズナ sfr2 欠損変異体に、KnGGGT1, 2, 3, SFR2-GFP をそれぞれ発現させ、SFR2 機能の相補実験を行ったが、SFR2 で相補した株では GGGT 活性化条件で TGDG の合成が見られたにもかかわらず、KnGGGT1, 2, 3 では合成が確認されなかった。同様の実験を行った MpGGGT1-GFP 発現タバコ葉では、SFR2-GFP 発現葉と同様に TGDG 合成が確認されたが、MpGGGT2-GFP 発現葉では確認されなかった。ゲノム編集法を用いてゼニゴケ MpGGGT1, MpGGGT2 変異体の作出を行い、野生株との生育比較を行ったところ、通常生育条件では生育の差が見られなかった。GGGT 活性化条件 (酢酸処理) で、野生株, Mpgggt1, Mpgggt2 の脂質を解析したところ、野生株で合成される TGDG が Mpgggt1 変異体では合成されることがわかった。一方で、Mpgggt2 では TGDG の合成がみられた。このことから、MpGGGT1 が主要な TGDG 合成酵素遺伝子をコードしていることがわかった。さらに生育条件について検討を行った結果、GGGT 活性化条件 (酢酸処理) の培地で各ゼニゴケ植物体を処理した後に、通常生育培地に移した後の生育において、Mpgggt1 変異体は野生株と比較して、早期に葉状体の周辺が枯死し始めることが明らかになった。 植物の祖先が陸上に進出した頃には、枯死した植物によって形成された酸性土壌があった可能性が示唆されている。本研究の結果から、酸性土壌環境下でより生育範囲を広げて繁殖するためには GGGT を介した TGDG 合成が必須であり、そのため、GGGT は種子植物からコケ植物まで広く保存されているのではないかとすることが示唆された。

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	清水 信介		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)

The land plant colonization is a very important event in the formation of the present ecosystem. However, unlike in water, there are a wide range of stresses on land, such as high light stress, UV stress, low temperature stress, and dehydration stress. How plant ancestors adapted to these stresses is not fully understood. In Arabidopsis, Sensitive to freezing2 (SFR2) was found to be essential for synthesis of trigalactosyldiacylglycerol (TGDG) during freezing, and the knock-out mutants are sensitive to freezing (Moellering et al., 2010). In addition to freezing, TGDG accumulation was also observed when Arabidopsis leaves were soaked in organic acid solutions (Barnes et al., 2016).

In this study, I focused on the analysis of SFR2-like proteins using Klebsormidium nitens, a streptophyte that is thought to have diverged land plant emergence, and Marchantia polymorpha, a species that is thought to have diverged at the base of land plant evolution. From phylogenetic analysis, three SFR2-like genes, KnGGGT1, 2, and 3, were found in K. nitens. I analyzed the GGGT activity of three K. nitens and two M. polymorpha SFR2 homologs (KnGGGT1, KnGGGT2, KnGGGT3, MpGGGT1 and MpGGGT2, each as aGFP-fusion protein) using a transient expression system in Nicotiana benthamiana leaves and found that only MpGGGT1-GFP synthesized TGDG. The knock-out mutants Mpgggt1 and Mpgggt2 showed no accumulation of TGDG even after acetic acid treatment of the plants. Growth of wild-type and mutant plants were similar under control growth conditions, but Mpgggt1 mutants showed impaired phenotype after acetic acid treatment. Plant ancestors expanded on land, there may have been acidic soils formed by dead plants. From these results, it was suggested that GGGT-mediated TGDG synthesis might have been essential for plants to expand their growth range and thrive in acidic soil environments, and therefore, GGGT may have been widely conserved from seed plants to mosses.

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).