

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	加藤 大貴
論文題目	苔類ゼニゴケにおけるオーキシンを介した転写制御機構の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>オーキシンは植物の発生と応答を制御する主要な生長調節物質である。オーキシン信号伝達には転写を介した制御経路が重要であり、その分子機構として F-box タンパク質 TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE1/AUXIN SIGNALING F-BOX (TIR1/AFB)がオーキシン依存的に転写抑制因子 AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID (AUX/IAA)を分解に導くことで転写因子 AUXIN RESPONSE FACTOR (ARF)の機能を制御するモデルが明らかにされている。この機構は植物の進化の中で確立したと考えられるが、これまでの研究は主にシロイヌナズナを中心とした被子植物をモデルに行われており、陸上植物におけるオーキシンを介した転写制御の起源や進化については未解明な点が多かった。本論文では、陸上植物進化の基部に位置する苔類に属するゼニゴケ <i>Marchantia polymorpha</i> をモデルに、オーキシンを介した転写制御の機構とその生理的役割について解析を行った。</p> <p>まず、ゼニゴケにおけるオーキシン信号伝達因子の相同遺伝子をトランスクリプトームおよびゲノムデータベースを用いて探索し、ゼニゴケが1種の <i>TIR1/AFB</i> (<i>MpTIR1</i>)、1種の <i>AUX/IAA</i> (<i>MpIAA</i>)、3種の <i>ARF</i> (<i>MpARFs</i>) ホモログを持つことを明らかにした。次に、見出した遺伝子の機能解析を行った。推定分解調節領域(ドメイン II)を改変した安定型 <i>MpIAA</i> をゼニゴケで発現させたところ、得られた植物ではオーキシン耐性を示し、オーキシン応答レポーターである <i>proGH3:GUS</i> のオーキシン依存的な発現を抑制することができた。このことから <i>MpIAA</i> は被子植物における <i>AUX/IAA</i> と同様の機構でオーキシン信号伝達に関与することが示唆された。次に安定型 <i>MpIAA</i> とグルココルチコイド受容体の融合タンパク質を発現させることで、DEX 依存的にオーキシン応答を抑制できるシステムを構築した。この形質転換体を用いて誘導的にオーキシン応答を抑制したところ、無性芽からの分化、葉状体の背腹性、様々な器官発生、生殖器の屈性応答、胞子体の発生など、生活環全体の多くの発生プロセスにおいて多様な異常を示した。次にゼニゴケがどのようにして多様なオーキシン応答を制御するかを、3種の <i>ARF</i> の機能分化に着目し解析した。Y2H 法、BiFC 法による解析から、<i>MpIAA</i> と <i>MpARFs</i> タンパク質は C 末端領域を介して様々な組み合わせで相互作用し、それぞれ異なる特異性を持つことを明らかにした。さらにタバコ培養細胞を用いた一過的トランスアクチベーション実験から、3種の <i>MpARFs</i> はそれぞれ異なる転写制御能をもつことを明らかにし、この結果は系統解析による予測と一致するものであった。</p> <p>以上の結果から、ゼニゴケが被子植物で見られるオーキシンを介した転写制御機構を完全かつ最小の形で持ち、多様なオーキシン応答を制御していることが示された。このことから <i>TIR1/AFB</i>、<i>AUX/IAA</i>、3種の <i>ARF</i> を介したオーキシン信号伝達機構は陸上植物の共通祖先で既に獲得されており植物の発生制御に関与していたことが示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、陸上植物進化の基部に位置する苔類に属するゼニゴケをモデルとして、植物の発生と応答において重要な生長調節物質であるオーキシンを介した転写制御機構の原形および基部陸上植物におけるオーキシンの生理的役割を明らかにしたものである。ゼニゴケのゲノムおよびトランスクリプトームデータベースからのオーキシシン信号伝達に關与する因子をコードする遺伝子の探索を行い、その分子系統学的な解析を行った。ゼニゴケにおける存在が推定されたオーキシシン信号伝達因子の中から、AUX/IAAホモログMpIAAに着目し、分子遺伝学的な手法を用いて、オーキシシン応答への關与、発現組織の解析と形態形成における役割を解析した。さらにオーキシシン応答の転写制御因子ARFホモログであるMpARFとMpIAAのタンパク質相互作用、MpARFの転写制御能の解析を行った。これらの解析によって、具体的には以下の知見を得ている。

1. ゼニゴケはTIR1/AFBを1分子種、AUX/IAAを1分子種、ARFを3分子種もつことを見出した。これは、被子植物が相同性を示す遺伝子を多数もつこととは対照的であり、陸上植物が進化の過程で遺伝的冗長性を獲得したことが示唆された。
2. AUX/IAAのタンパク質の安定性に關与するとされるドメインIIを改変したMpIAAを用いて、ゼニゴケに添加したオーキシシン依存的に誘導される遺伝子発現および発生制御にMpIAAを介する転写制御系が關与することを示した。
3. MpIAAはゼニゴケの生活環を通じて発現することを示した。ドメインII改変MpIAAを誘導的に機能発現させさまざまな発生段階で特異的にオーキシシン応答を攪乱する系を開発した。そして、MpIAAを介したオーキシシン信号伝達が細胞の伸長、葉状体の分化・背腹性、杯状体・無性芽・仮根の発生、生殖器の重力屈性応答、胞子体の発生を制御することを示した。
4. MpIAAとMpARFはドメインIII/IVを介して様々な組み合わせで相互作用しうること、その相互作用の親和性には違いがあることを示した。
5. 系統的に分化した3種のMpARFはそれぞれ異なる転写制御能をもつことを示した。

これらの結果によって、ゼニゴケはオーキシンを介した転写制御機構を最小かつ完全な形でもち、被子植物と基本的に共通した原理で多様な生理応答を制御していることが示唆された。また、多様なオーキシシン応答を生み出すのに信号伝達因子の高い冗長性は必須ではないことも示唆された。更に、ゼニゴケの単純なオーキシシン信号伝達機構は多様なオーキシシン応答を生み出すメカニズムを研究するのに適したモデルであり、オーキシシン信号伝達の解明へ貢献できることを示した。

尚、本論文には、生命科学に関する高度で幅広い学識、植物科学における優れた研究能力、そして植物発生制御の進化の理解・発展に寄与する新しい発見が示されている。また、本論文は、論理的かつ一貫性をもって記述されており、博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

平成27年4月9日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日