

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	鳥井 孝太郎
論文題目	1 細胞トランスクリプトームを用いた、生物リズムの変調による植物細胞の運命決定機構の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>生物はミクロな遺伝子発現からマクロな生理現象まで様々なリズムを内包している。これらの生物リズムは内外の環境変動に適応するために厳密に調節されており、頑健なリズム制御は生物の恒常的な活動にとっては欠かすことができない重要なメカニズムとなっている。その一方で、リズムの変調をうまくシステムに組み込み、生物の発生を制御するリズム現象も知られているものの、その例は少ない。こうしたリズムの変調による制御メカニズムがこれまでほとんど明らかにされなかった理由として、従来の解析手法では時空間解像度が低く細胞ごとに不揃いなリズムの時系列解析が困難である点が挙げられる。近年になって、1細胞 RNA-seq が普及し、1細胞の遺伝子発現データをその他多くのデータとつなぎ合わせることで、詳細な時系列解析を行うことが可能になってきた。そこで、本研究では植物ではまだ報告例が少ない1細胞 RNA-seq を用いることで、植物細胞の分化過程における新たなリズムの変調を計測し、それがどのように細胞分化に関わるのか明らかにすることを目的とした。</p> <p>第一章では、細胞分化の指標である特殊な細胞周期エンドサイクルと植物ホルモンオーキシンの関係に着目した。これまで、エンドサイクルの進行にはオーキシンレベルが低いことが必須であるとされていたが、実際にエンドサイクルが進行する細胞ではオーキシンレベルは高い、という矛盾があった。そこで、既に公開されている1細胞 RNA-seq データを再解析することで、エンドサイクルと有糸分裂サイクルの時系列を再構築し、それぞれにおけるオーキシンレベルを推定した。その結果、オーキシンレベルはエンドサイクル内でのみ変動し、オーキシンの必要なフェーズでのみ細胞内のオーキシンレベルを増大させ、不要なフェーズでは低減させる仕組みの存在が明らかになった。さらに、この細胞自律的なオーキシンレベルの変動こそがエンドサイクルの進行の要であることも示した。</p> <p>第二章では生物リズムで最も有名な概日リズムの変調とそれによる細胞分化制御を解析した。これまで1細胞RNA-seqデータの時系列解析は時間情報を加味しておらず、概日リズムのような時間経過による変動リズムを捉えることは難しかった。そこで、擬似的な時間軸に実時間の情報を付与するアルゴリズムを新たに開発し、分化誘導系を用いることで幹細胞の分化過程における概日リズムの変動を観察した。その結果、脱分化により生じた幹細胞では概日リズムの振動が停止し、分化が進行するにつれ概日リズムが現れることが明らかとなった。さらに、分化後の時計遺伝子の発現プロファイルは脱分化前の細胞のものとは大きく異なっていたことから、幹細胞において概日時計システムが再構成されていることを示した。この概日リズムの変調が実際に細胞分化・分裂関連遺伝子の発現を制御していたことから、概日時計の変調により細胞運命が制御されていることが明らかになった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

生物は遺伝子発現から個体レベルの生理現象まで様々な階層のリズムを持つ。これらの生物リズムは内外の環境変動に適応するために巧妙に調節されており、頑健なリズム制御は生物の恒常的な活動にとっては欠かすことができない重要なメカニズムである。一方で、リズムの変調をうまくシステムに組み込み、それにより発生を制御する現象も少数例ながら知られている。しかし、こうしたリズムの変調による発生制御の機構はこれまでほとんど明らかにされていない。その理由として、従来解析手法では時空間解像度が低く、細胞ごとに異なるリズムの時系列解析が困難である点が挙げられる。近年、1細胞 RNA-seq が普及し、1細胞の遺伝子発現データを多くの他のデータと合わせ用いることで、詳細な時系列解析を行なうことが可能になってきた。申請者は、植物ではまだ報告例が少ない1細胞 RNA-seq を用いることで、細胞の分化過程における新たなリズムの変調を計測し、それがどのように細胞分化に関わるかを明らかにすることを目的に研究を行なった。

申請者はまず、1細胞 RNA-seq データの時系列解析の有効性を実証した。細胞分化の指標である特殊な細胞周期エンドサイクルの進行にはオーキシンレベルが低いことが必須であるとされていたが、実際にエンドサイクルが進行する細胞ではオーキシンレベルは高い、という矛盾があった。そこで、申請者は既に公開されている根端組織の1細胞 RNA-seq データを再解析することで、エンドサイクルと有糸分裂サイクルの時系列を再構築し、それぞれにおけるオーキシンレベルを推定した。その結果、オーキシンレベルはエンドサイクル内でのみ変動し、オーキシンが必要なフェーズに先立って細胞内のオーキシンレベルを増大させ、不要なフェーズではこれを低減させる機構が存在することを明らかにした。さらに、この細胞自律的なオーキシンレベルの変動がエンドサイクルの進行の要であることも示した。

申請者は、次に、時系列解析に実時間の情報を加味することで、高い時間分解能で1細胞 RNA-seq データを解析し、細胞分化過程と概日時計の因果的な関わりを検証することを試みた。申請者は、擬似的な時間軸に実時間の情報を付与するアルゴリズムを新たに開発し、葉肉細胞から維管束細胞への分化転換誘導系(葉肉細胞→メリステム幹細胞→維管束幹細胞→維管束細胞)を用いることで、幹細胞からの道管細胞の分化過程における概日リズムの変動を観察した。その結果、脱分化により生じた幹細胞では概日リズムの振動が停止し、細胞分化の進行に先立って概日リズムが現れることが明らかになった。また、分化後の時計遺伝子の発現プロファイルは脱分化前のものとは大きく異なることから、幹細胞において概日時計システムが再構成されていることを示した。さらに、この概日リズムの変調が実際に細胞分化・分裂関連遺伝子の発現を制御することから、概日時計の変調により細胞運命が制御されることが強く示唆された。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、植物生理学分野と時間生物学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見ならびに概念が示されており、論理的かつ一貫性をもって記述されている。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。また、令和2年2月3日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行なった結果、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