

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	鈴木 秀政
論文題目	苔類ゼニゴケの器官形成における細胞系譜の寄与と核オーキシン信号伝達による制御機構の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>陸上植物は内外の区別のある三次元的なボディープランを共有派生形質とする。コケ植物は現生陸上植物で最も早期に分岐した単系統群であり、残る維管束植物との比較分析は植物に普遍的な発生原理解明への一助となる。第一章では、苔類ゼニゴケの器官形成様式を解析した。維管束植物の地上部器官は、分裂組織周辺で位置情報に応じて繰返し形成される。一方コケ植物では、蘚類などでの解析から頂端幹細胞の娘細胞に由来するクローナルな細胞群“メロファイト”単位で器官形成されると考えられてきた。しかし、メロファイト単位の器官形成がコケ植物に普遍的であるのかは不明であった。そこで本研究では、ゼニゴケを用い、誘導的な少数細胞の遺伝的標識により細胞系譜を可視化する系を立ち上げた。ゼニゴケは葉状体先端のノッチに頂端幹細胞をもつ。無性繁殖体である無性芽で誘導処理して培養すると、しばしば基部からノッチにかけて葉状体を縦断するセクタが生じた。当該セクタにより背側器官の気室や杯状体も二分されており、位置情報に応じてメロファイトを跨いで器官形成されることが示唆された。この結果から、陸上植物の位置情報依存的な器官形成機構は共通祖先で獲得された、あるいは、進化上複数回獲得されたことが考えられる。第二章では、移動性シグナル分子である植物ホルモンオーキシンに着目した。被子植物では TIR1/AFB 受容体がオーキシン依存的に転写抑制因子 AUX/IAA の DII 領域に結合して分解を促し、転写因子 ARF による転写制御を亢進する。TIR1/AFB ホモログ MpTIR1 の過剰発現はゼニゴケのオーキシン感受性を上昇させた。逆に Mptir1 変異体は生理応答・転写応答両面でオーキシン感受性が低下した。MpTIR1 は <i>in vitro</i> でオーキシン依存的にゼニゴケ AUX/IAA (MpIAA) の DII と相互作用し、<i>in vivo</i> では DII 付加タンパク質の分解を促した。MpTIR1 とシロイヌナズナ TIR1 はともに Mptir1 変異体を相補した。これらの結果から MpTIR1 が被子植物 TIR1 と共通したオーキシン受容体機能を有することが示唆された。胞子発芽体における MpTIR1 ノックアウトにより、器官形成が損なわれ細胞塊状となった。また誘導的ノックアウトにより、無性芽形成時の体軸形成が攪乱される、無性芽が発芽後に細胞塊状となるなどの表現型を呈した。RNA-seq データに基づく主成分分析では、ゼニゴケ各器官は第一・第二主成分軸に沿って発生順に並び、Mptir1 変異体は胞子発芽体と葉状体の中間に位置した。Mptir1 変異体は胞子発芽体と葉状体いずれよりも、複数の既知の器官形成制御転写因子が低発現であった。以上から、MpTIR1 を介した核オーキシン信号伝達は体軸形成並びに器官形成を制御しており、三次元的な発生に必須であることが示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

陸上植物は、内外の区別のある三次元的な体制を共有派生形質とする。本論文では、現生陸上植物で最も早期に分岐した系統群であり配偶体 ( $n$ ) 世代が優勢であるコケ植物に属し、モデル生物として実験に適した特徴をもつ苔類ゼニゴケを材料に、陸上植物の発生原理を理解するうえで重要な細胞系譜および位置情報に基づく発生制御の重要性に対して、以下の二つのアプローチによって取り組んだものである。

第一章では、少数の細胞を遺伝的に標識するクローナル解析の実験系を立上げ、細胞系譜と器官形成の関係を解析した。部位特異的組換え系を誘導的かつ一過的に発現する系を利用し、少数の細胞を蛍光タンパク質レポーターで標識し、その後の発生において細胞系譜を追跡する実験系を確立した。実験系の立ち上げに加えて、大量の画像データの取得を行い、独創的な手法で解析を実施した点は高く評価できる。同化器官である気室や杯状体のセクタの観察から、細胞系譜を可視化し、これら背側器官が細胞系譜を跨いだ多細胞器官として形成されると結論している。基部植物の発生は基本的に細胞系譜に依存するとされていたが、維管束植物と共通する位置情報に依存した発生機構がコケ植物に存在するという知見を得たことは、植物学への大きな貢献であると評価できる。

第二章ではモルフォゲンとして作用する植物ホルモンであるオーキシンの発生への寄与について、ゼニゴケの遺伝的な冗長性の低さを利用して明解に解析している。なかでも信号伝達の起点となるオーキシン受容体TIR1/AFBに注目した。ゼニゴケゲノムに1コピーのみコードされるTIR1/AFBホモログMpTIR1の過剰発現体がオーキシンに対して感受性が上昇すること、その突然変異体が応答能を失うことを示した。次にMpTIR1と転写抑制因子MpIAAがオーキシン依存的に相互作用することを生化学的に示し、MpTIR1がオーキシン受容体としての機能を有することを実験的に示した。次いで、相同組換えやゲノム編集により得られたMp*tir1*変異体や条件的変異体植物の観察から、MpTIR1が体軸の確立や秩序だった発生に必須であることを示した。第一章で確立した実験法を遺伝子機能の解析に応用している点も評価に値する。さらにMp*tir1*変異体を材料にしたRNAseq解析による網羅的な遺伝子解析とデータベースに収録されたさまざまな発生段階のデータとトランスクリプトームの比較により、オーキシンによる遺伝子発現制御の全体像を俯瞰するとともに、植物発生におけるオーキシンの重要性を明らかにした。これらの結果から、MpTIR1を介したオーキシン信号伝達は幹細胞の形成と維持を制御する一方で器官分化をも制御し、配偶体世代においても三次元的な発生に必須の機能を担うことを見出した。これは、オーキシンを介した発生制御が植物の陸上進出に伴って成立したことを実験的に明瞭に示した成果として高く評価できる。

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、植物進化発生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もしくは概念等が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和3年2月1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