（ 続紙 1 ）

京都大学	博 士（ 理 学 ）	氏名	細川　智佳
論文題目	シロイヌナズナ芽生えにおける環境応答と成長相転換に関する研究		

（論文内容の要旨）

種子植物の芽生えは発芽後、種子に貯蔵していた栄養を使って成長し、光合成能を獲得する。この過程はseedling establishmentと呼ばれ、従属栄養成長から独立栄養成長への成長相転換である。先行研究において、シロイヌナズナのいくつかの膜交通因子の変異体はショ糖を含まない固形培地上で成長停止することが知られていたが、その原因は明らかではなかった。本研究では、膜交通変異体*kam2*の着目し芽生えの成長停止の表現型とその原因について解明を行った。

ショ糖を含まない0.5%ゲランガム固形培地では*kam2*変異体の多くの個体が発芽後に成長を停止し、seedling establishmentに失敗した。成長停止した*kam2*変異体の芽生えを、ショ糖を含む固形培地に移す移植実験を行ったところ、ほぼ全ての芽生えは生育を再開した。意外なことに、成長停止した*kam2*変異体を新しいショ糖を含まない培地に移植した場合でも、約半数の芽生えが成長を再開した。これらの結果から、ショ糖を含まない固形培地で*kam2*変異体が示す成長停止は、栄養不足ではなく環境に対する応答である可能性が示唆された。

成長停止に影響を与える環境要因を検討した結果、固形培地の固さが関わっている可能性が示唆された。*kam2*変異体は通常より柔らかい0.2%ゲランガム培地では成長停止がひどくなり、より固い1%ゲランガム培地では緩和した。驚いたことに、野生型シロイヌナズナも柔らかい培地では成長停止が引き起こされ、*kam2*変異体は野生型よりも固形培地のゲル濃度に対して感受性が高いことが示された。柔らかい固形培地で発芽した芽生えは地上部が培地と接触しやすいことから、野生型および*kam2*変異体の成長停止の原因は培地との接触が原因である可能性が示唆された。実際、芽生えの地上部が培地に接触しにくいように、孔を開けたプラスチックシートを固形培地の上に置き、その孔に種子を播種したところ*kam2*変異体の成長停止が緩和された。

*kam2*変異体の成長停止の原因を転写レベルで調べるために、RNA-seq解析によって遺伝子発現を網羅的に調べた。通常の固形培地、柔らかい固形培地、プラスチックシートを乗せた固形培地で育てた播種後4日目の芽生えを用いた。主成分分析により、生育停止の割合とシートの有無で、48%の遺伝子発現変動が説明できることが明らかとなった。GOエンリッチメント解析の結果、正常にseedling establishmentする条件ではグルコシノレート生合成やオーキシン応答および細胞壁に関連した遺伝子が高レベルに発現する一方、成長停止条件では低酸素応答と防御応答に関連した遺伝子が高レベルに発現することが判明した。

ショ糖を含まない固形培地で見られる芽生えの成長停止はこれまで貯蔵物質の不足やその代謝異常が原因と考えられてきた。本研究は、この成長停止が*kam2*など変異体に限った表現型ではなく、野生型シロイヌナズナでも起こる普遍的な環境応答現象である可能性を示した。

（続紙　２　）

（論文審査の結果の要旨）

本研究は従属栄養成長から独立栄養成長への芽生えの成長相転換に関する研究である。種子植物の芽生えは発芽後、種子に貯蔵していた栄養を使って成長し光合成能を獲得する。この過程はseedling establishmentとよばれ、植物の生存に非常に重要であり、外的要因（環境要因）と内的要因の両面から調節されている。しかしながら、芽生えの成長相転換がどのように制御されているのかは不明な点が多い。細川智佳氏はモデル植物シロイヌナズナを用いて、発芽後の芽生えの成長相転換の過程を生理学的および分子生物学的なアプローチから解析を行った。

シロイヌナズナのいくつかの膜交通因子の変異体は、ショ糖を含まない固形培地で発芽すると多くの個体が子葉を展開したステージで成長停止することが先行研究において知られていた。その原因は長らく不明であったが、細川氏は膜交通変異体の１つである*kam2*変異体に着目して解析を進めた。その結果、*kam2*変異体の芽生えの成長停止は炭素源の不足が原因ではなく、劣悪環境に対する応答反応であることを見出した。また成長停止の原因は植物体と培地との接触によることを明らかにし、通常より固い培地を用いたり培地の表面にプラスチックシートを置いたりして、接触を回避すると成長停止が緩和されることを見出した。これらの研究成果は、芽生えの成長停止の生理学的な理解に大きく貢献した点で評価できる。さらに細川氏は、通常よりも柔らかい固形培地を用いると、野生型のシロイヌナズナの芽生えにも成長停止が誘導されることを見出した。これは芽生えの成長停止が変異体のみに見られる特別な表現型ではなく、野生型にも見られる普遍的な環境応答の一種であることを示した重要な成果である。

細川氏はさらに芽生えの成長停止に関するグローバルな遺伝子発現についても調査を行った。成長停止した芽生えではオーキシン応答および細胞壁に関連した遺伝子群の発現が低下するとともに、低酸素応答と防御応答に関連した遺伝子群の発現上昇が観察された。細川氏はこれらの遺伝子発現の変動より、芽生えのガラス化（水浸状化）が成長停止の引き金になっている可能性を提唱した。すなわち、培地と接触した芽生えがガラス化状態に陥り、低酸素応答を引き起こすとともに成長関連遺伝子の発現低下と防御応答関連遺伝子の発現誘導が引き起こされているというものである。これらの遺伝子レベルの解析結果は、今後の芽生えの成長停止の分子メカニズムの解明に貢献するものとして高く評価できる。

本研究は芽生えの成長相転換に着目し、今後の研究の基礎を築いた点は、植物学の発展に寄与するものとして高く評価できる。これまでになかった新しい視座を提供するとともに、本研究をベースに今後のこの現象の理解が進むことが期待される。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、令和６年１月３１日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日：　　年　　月　　日以降