

〈2015年度 バイオ環境研究科〉 博士学位論文の要旨及び審査の結果

氏名	長瀬 泰亮 (ながせ たいすけ)
学位の種類・番号	博士 (バイオ環境) ・甲 (課程博士) 第3号
学位授与年月日	2015年9月9日
博士論文題目	Mechanisms of interaction between auxin and brassinosteroid pathways in <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナにおけるオーキシンと ブラシノステロイドの相互作用機構)

〈審査委員〉

主調査委員	關谷次郎
副調査委員	大城 閑 中村正彦
試問委員	高瀬尚文 松原 守 矢野善久 プリエト ラファエル

論文の要旨

オーキシンは、植物における環境刺激に対する応答因子であり、また、内部因子として発生、形態形成や細胞の分裂・伸長・分化などに働く重要な植物ホルモンである。本論文は、オーキシン応答に関与する遺伝子の単離と機能解析を行うことを目的として、根の伸長がオーキシンによって強く抑制されるオーキシン高感受性シロイヌナズナ株 (auxin hypersensitive, *axhs*) の分離と解析を行った研究成果を取りまとめたものであり、以下の内容で構成されている。

イントロダクションの項では、オーキシンが植物の成長や分化に重要な役割を果たすこと、オーキシンの輸送と生合成に関与する遺伝子、オーキシン信号伝達に関する分子メカニズム、オーキシンとブラシノステロイドの相互作用などについて、これまで報告されていた研究が取りまとめられている。

実験材料と方法の項では、シロイヌナズナの野生型 (Columbia) や変異体種子の種類、発芽方法と生育条件、成長測定法、RNA抽出とRT-PCR解析法、オーキシン高感受性変異株 (*axhs*) の単離と同定法、GUS発現解析法など、本研究に用いた実験材料と実験手法について述べている。

実験結果の項では、本研究で得られた以下の点が述べられている。①T-DNA挿入シロイヌナズナから2,4-D (2,4-ジクロロフェノキシ酢酸) によって根の伸長が強く抑制されるオーキシン高感受性株 (*axhs*) を単離し、その1株 (*axhs1*) を研究に用いた。*axhs1* 株は下胚軸の成長も抑制されていた。*axhs1* は、天然オーキシンであるインドール酢酸 (IAA)、アンチオーキシンの2,4-ジクロロフェノキシイソ酪酸 (PCIB)、オーキシン排出輸送の阻害剤である2,3,5-トリヨード安息香酸 (TIBA) と *N*-1-ナフチルフタラミン酸 (NPA) にも高感受性を示した。②TAIL-PCR解析から、*axhs1* はブラシノステロイド生合成経路中の水酸化反応を触媒する酵素をコードする *DWF4* の第7イントロンにT-DNAが挿入された変異体であることを明らかにした。*axhs1* の表現型がブラシノステロイドの添加によって相補されたことは、*AXHS1* が *DWF4* タンパク質をコードすることを強く支持している。③ *DR5::GUS* と *HS::AXR3NT::GUS* レポーター遺伝子の解析、および *axhs1* を *wei2* (オーキシンの生合成に関与する遺伝子の変異株)、*aux1-7* あるいは *eir1-1* (オーキシン輸送体遺伝子の変異株)、*tirl-1* (オーキシン受容体遺伝子の変異株)、*axr1-3* あるいは *axr2-1* (オーキシンシグナル伝達に関与する遺伝子の変異株) と交配して二重変異株を作

成し、その解析を行ったところ、*axhs1* のオーキシン高感受性はオーキシンのシグナル伝達と AUX1 と EIR1 による根の先端から細胞伸長領域へのオーキシン輸送によって支配されていることを示唆する結果を得た。

考察の項では、本研究で得られた結果とこれまでに報告されているオーキシンとブラシノステロイドの生合成や調節に関与する遺伝子との関係などについて考察し、オーキシンとブラシノステロイドの比によってオーキシン輸送とシグナル伝達に関わる Aux/IAA レプレッサータンパク質の分解が調節され、オーキシン応答性遺伝子の発現調節が行われると結論した。本研究の結果をもとに、ブラシノステロイドとオーキシンの信号伝達における相互作用に関するモデルを提唱している。

## 審査の結果

最も重要な植物ホルモンにオーキシンがあり、環境刺激に対する応答因子として、また内部因子として発生、形態形成、細胞の分裂・伸長・分化などに関与している。本論文は、オーキシン応答に関与する遺伝子の単離と機能解析を行うことを目的として、根の伸長がオーキシンによって強く抑制されるオーキシン高感受性シロイヌナズナ変異体 (*axhs*) の分離と解析を行った研究成果を取りまとめたものであり、以下の点が評価できる。

イントロダクションでは、オーキシンの輸送と関与する遺伝子、オーキシン信号伝達に関する分子メカニズム、オーキシンとブラシノステロイドなどとの相互作用などについてこれまでに報告されている研究の概要を、本研究の目的と関連させて簡潔に取りまとめている。

実験材料と方法の項では、シロイヌナズナの野生型や変異体種子の種類、分子生物学的な解析法などが適切に述べられている。

実験結果と考察では、根の伸長がオーキシンによって強く抑制されるシロイヌナズナ変異株 (*axhs*) を T-DNA 挿入シロイヌナズナより単離し、その変異が *DWF4* にあることを見出した。*axhs1* は、オーキシン (IAA と 2, 4-D)、阻害剤 (PCIB、TIBA、NPA) にも高感受性を示した。*DR5:GUS* と *HS:AXR3NT-GUS* レポーター遺伝子解析、*axhs1* と *wei2*、*aux1-7*、*eir1-1*、*tirl-1*、*axr1-3*、*axr2-1* と二重変異株を作成して解析した結果から、*axhs1* のオーキシン高感受性はオーキシンのシグナル伝達と AUX1 と EIR1 による根端から細胞伸長領域へのオーキシン輸送によって支配されていることを見出した。オーキシンとブラシノステロイドの量のバランスによってオーキシン輸送と Aux/IAA レプレッサータンパク質の分解が調節され、このことによりオーキシン応答性遺伝子の発現調節が行われることと結論した。本研究の結果をもとに、ブラシノステロイドとオーキシンの信号伝達における相互作用のモデルを提唱している。

以上、本論文はシロイヌナズナにおけるオーキシンとブラシノステロイドの相互作用の一端を分子生物学的に解明したものであり、植物生理学、植物分子生物学の分野の発展に学術的に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士 (バイオ環境) の学位論文として価値あるものと認める。

また、平成 27 年 8 月 27 日、公聴会において論文内容とそれに関連した事項について試問を行い、長瀬泰亮氏が博士の学位取得の基準を満たしていることを確認した。