The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Characterization of all Aux/IAA proteins of Arabidopsis thaliana : Auxin sensitivities and functions
Author(s)	志水, 悌
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52279
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式3

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　志水　悌　　）	
論文題名	Characterization of all Aux/IAA proteins of *Arabidopsis thaliana* – Auxin sensitivities and functions – (すべてのシロイヌナズナAux/IAAのオーキシン感受性と機能についての解析)

論文内容の要旨

オーキシンは主要な植物ホルモンの一つであり，細胞伸長や頂芽優性，細胞分裂，分化状態の変化など様々な応答に関わっている．これらの応答は組織や応答ごとに異なるオーキシン感受性を示す事が分かっている．例えば，根の細胞伸長は非常に低濃度のオーキシンで促進され，低濃度のオーキシンで抑制される．一方茎の細胞伸長は低濃度のオーキシンで促進され，高濃度のオーキシンによって抑制される．また，根端ではオーキシン濃度が高い部分では細胞分裂が誘導され，オーキシン応答が下がると分化して細胞伸長が促進されると考えられている．このように場所やオーキシンの濃度によって様々な応答を制御しているオーキシンについて，オーキシン感受性を作る仕組みについてはよくわかっていない．

オーキシン応答はAux/IAAにより制御される．Aux/IAAは転写因子ARFと結合し，オーキシン応答性遺伝子の発現を抑制しているが，オーキシン存在下ではF-boxオーキシン受容体であるTIR1やAFBと結合して分解される．その結果オーキシン存在下ではARFがオーキシン応答性遺伝子を発現させてオーキシン応答が誘導される（図）．モデル植物であるシロイヌナズナにはARFが23種類，Aux/IAAが29種類，F-boxオーキシン受容体がTIR1とAFB1-5の計6種類あり，天然オーキシンとしてIAA，4-Cl-IAA，PAA，IBAが知られている．誘導されるオーキシン応答の多様性はAux/IAAとARFの組み合わせにより制御されていると考えられ，オーキシン感受性の多様性はAux/IAAs，TIR1又はAFBs，オーキシン種の組み合わせでの感受性によって制御される可能性がある．そこで私はオーキシン応答の感受性を作り出す仕組みを調べるためにAux/IAAとTIR1やAFBsの組み合わせごとのオーキシン感受性と，Aux/IAAが制御に関わっているオーキシン応答を調べ，Aux/IAAの分解のオーキシン感受性とそれぞれのAux/IAAが制御しているオーキシン応答に関連があるのかを明らかにする事を目的として研究を行った．

まず植物内在性因子の影響を排除するために酵母での再構成系を利用してAux/IAAの分解のオーキシン感受性を調べた．ルシフェラーゼを融合させたAux/IAAを発現する酵母とSKP1を融合させたTIR1やAFBを発現する酵母を作製し，これらの接合体を作る事でシロイヌナズナにおけるすべてのAux/IAAとF-box受容体の組み合わせを再現した．これらの酵母にIAA，4-Cl-IAA，PAA，IBAを様々な濃度で投与する事で組み合わせごとのAux/IAAのオーキシン感受性を測定した．その結果IBAではAux/IAAの分解を誘導出来なかった．また，AFB1，3，4，5ではオーキシン依存的なAux/IAAの分解が確認出来なかった．Aux/IAAの天然オーキシン感受性については多くのAux/IAAではTIR1とAFB2で大きな違いは見られなかったが，一部のAux/IAAではTIR1とAFB2での分解されるオーキシンの濃度で違いがあった．これによって，すべてのAux/IAAの分解のされやすさを調べる事が出来た．

Aux/IAAの分解のされやすさと植物内での機能との比較を行うために，Aux/IAAのgain-of-function変異体を作製した．Aux/IAAの分解にはF-box受容体との結合部位の配列が重要であり，この部分に変異が入ったAux/IAA変異体ではAux/IAAが分解されなくなり，そのAux/IAAが関わっているオーキシン応答が抑制されることが報告されている．酵母での実験からこの部位にTrp-Pro-Pro（WPP）をもつAux/IAAが分解される事も分かったため，WPPをTrp-Ser-Pro（WSP）に変異させた変異型Aux/IAA（mIAA）の遺伝子を作製し，シロイヌナズナに組み込むことでgain-of-function変異型のAux/IAA遺伝子をもつシロイヌナズナを作製した．これによりオーキシン応答ごとにそれぞれどのAux/IAAが関わっているかを確認した．

Aux/IAAがオーキシン応答の感受性を制御しているのかを調べるには分解に高濃度のオーキシンを必要とするAux/IAAがオーキシン応答の感受性を制御しているのかを調べる必要があると考えた．酵母での実験からIAA31は非常に分解されにくいことが分かっており，IAA31のgain-of-function変異体mIAA31では茎頂分裂組織での原基形成を行えない表現型を示した．そこでIAA31が茎頂分裂組織においてどのような制御を行っているのかを調べた．その結果IAA31は茎頂分裂組織の表層で発現し，オーキシン応答を抑制することが明らかとなった．IAA31の遺伝子破壊株iaa31では茎頂分裂組織においてオーキシン感受性が上がっている事が観察出来た．これによって茎頂分裂組織においてはオーキシン感受性が分解されにくいAux/IAAであるIAA31によって制御されていることがわかった．

（記入例）

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（ 志水 悌）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　教 授	柿本辰男
	副 査　教 授	長谷俊治
	副 査　准教授	高木慎吾

論文審査の結果の要旨

オーキシンは主要な植物ホルモンの一つであり、細胞伸長や頂芽優性、細胞分裂、分化など様々な発生・生理機能を調節している。これらの応答は組織や応答ごとに異なるオーキシン感受性を示す事が分かっている。このように場所やオーキシンの濃度によって様々な応答を制御しているオーキシンについて、オーキシン感受性を作る仕組みについてはよくわかっていない。オーキシン応答は Aux/IAA により制御される。Aux/IAA は転写因子 ARF と結合し、オーキシン応答性遺伝子の発現を抑制しているが、オーキシン存在下では F-box オーキシン受容体である TIR1 や AFB と結合して分解される。その結果オーキシン存在下では ARF がオーキシン応答性遺伝子を発現させてオーキシン応答が誘導される。モデル植物であるシロイヌナズナには、Aux/IAA が 29 種類、F-box オーキシン受容体は TIR1 と AFB1-5 の計 6 種類あり、天然オーキシンとして IAA、4-Cl-IAA、PAA、 IBA が知られている。多数存在する Aux/IAA の分解に於けるオーキシン感受性の違いが多様なオーキシン応答を作り出していると考えられるが、これまで Aux/IAA 蛋白質のオーキシン感受性は部分的にしか知られていなかった。志水氏は、まず植物内在性因子の影響を排除するために酵母での再構成系を利用して Aux/IAA の分解のオーキシン感受性を調べた。ルシフェラーゼを融合させた Aux/IAA を発現する酵母と SKP1 を融合させた TIR1 や AFB を発現する酵母を作製し、これらの接合体を作る事でシロイヌナズナにおけるすべての Aux/IAA と F-box 受容体の組み合わせを再現し、Aux/IAA タンパク質の安定性を調べた。そのデータは、オーキシン作用を理解する上で、あるいはそれを利用する上で、極めて有用なものである。

次に、志水氏は、植物内での Aux/IAA タンパク質の機能を調べるため、それぞれの Aux/IAA タンパク質を安定化させる変異型遺伝子を作成し、シロイヌナズナに導入し、表現型を観察した。これにより、複数の Aux/IAA タンパク質に付いて、その選択的分解が茎頂分裂組織や根の形態形成において重要であることが明らかになった。Aux/IAA タンパク質のうち IAA31 については入念に表現型を観察し、茎頂分裂組織での器官形成のためには IAA31 の分解が必要であるという結果を得た。また、IAA31 の機能欠損変異体においては茎頂分裂組織でのオーキシン反応が亢進している事を見いだした。

これらの成果は植物のオーキシン応答機構についての重要な新知見である。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める、