HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Phylogenetic and molecular biological study of nitrogen transporters in Bangiales (Rhodophyta) [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	李, 成澤
Citation	北海道大学. 博士(水産科学) 甲第13821号
Issue Date	2019-12-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/76555
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Chengze_Li_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）　　氏名：李　成澤（Chengze Li）

審査委員	主査　教授	岸村　栄毅
	副査　教授	細川　雅史
	副査　准教授	井上　晶
	副査　准教授	三上　浩司

学 位 論 文 題 目

Phylogenetic and molecular biological study of nitrogen transporters in Bangiales (Rhodophyta)

(原始紅藻類における窒素トランスポーター系統的および分子生物学的研究)

窒素は、陸上および海洋生活圏で植物の成長に不可欠な高分子栄養素である。その存在形態は、尿素のような有機体と硝酸 (NO_3^-)、亜硝酸 (NO_2^-) 、アンモニウム (NH_4^+) などの無機体の 2 種類があり、これらが土壌や海水における主要な窒素原となっている。この場合、アンモニウムの取り込みはアンモニウム輸送体 (AMTs) で行われ、尿素と硝酸はそれぞれ尿素輸送体 (DUR3s) と硝酸輸送体 (NRTs) により吸収される。日本の海面養殖業で重要なスサビノリ (*Pyropia yezoensis*) などのアマノリ類においては、海水中の窒素原の枯渇により“色落ち”と呼ばれる現象が生じ、これは商品としての板ノリの品質を著しく低下させる。しかし、窒素原が回復すると色落ちも解消される。スサビノリにおけるこの回復過程では、窒素原枯渇により強く誘導された一部の AMT および DUR3 遺伝子の発現が窒素原回復により低下することが知られている。しかし、これまでのアマノリ類の窒素欠乏応答に関わる遺伝子およびその発現制御の解析は不十分であり、アマノリの色落ち現象の分子生物学的な理解がほとんどできていないのが現状である。その解消に向けた基礎的な試みとして、本研究ではスサビノリおよびウシケノリ (*Bangia* sp.) の窒素輸送体遺伝子の網羅的な同定と系統解析、およびそれらの発現解析を行った。

まず、研究室で行われたトランスクリプトーム解析に基づき、スサビノリの *AMT*

遺伝子が複数存在してファミリーを形成していること、また、分枝系統解析によりそれがAMT1 および Rh サブファミリーから成り、藻類が陸上植物で見られる AMT2 サブファミリーを持っていないこと、などの新しい知見を得た。さらに、定量的遺伝子発現解析により、各 *AMT1* 遺伝子が生活環や窒素源欠乏条件でそれぞれ異なる発現パターンを示すことを見出した。ただ、色落ちに伴う窒素源欠乏誘導性は共通していた。以上のことから、スサビノリの *AMT* 遺伝子ファミリーには窒素欠乏応答において役割分担があることが示唆された。

次に、スサビノリとは属が異なるアマノリであるウシケノリの窒素輸送体の同定を行った。最近ウシケノリの分類体系が改変され、いままでウシケノリとしていたアマノリがじつは別種であることが多いことが明らかとなっている。そのため、本研究で用いる北海道江差産の海藻について分子分類学的解析を行ったところ、それが‘*Bangia*’ 2 グループに属しウシケノリとは言えないことが明らかとなったため、‘*Bangia*’ sp. ESS1 と名付けた。やはり研究室で行われたトランスクリプトーム解析と分子系統解析に基づき、5 つの *AMT1* 遺伝子、1 つの *NRT2* 遺伝子、2 つの *DUR3* 遺伝子を見出した。*Bangia* 属における窒素輸送体遺伝子については、これらが最初の報告となる。

これら‘*Bangia*’ sp. ESS1 の窒素輸送体遺伝子の発現解析を行うためには、発現量の補正に用いる reference genes を同定する必要がある。そのため、いくつかの候補について妥当性を検証したところ、窒素欠乏ストレスについては *60S rRNA* と *actin* 遺伝子の 2 つが必要であることが分かった。なお、これらの解析から、*60S rRNA* と *actin* 遺伝子は塩ストレスや温度ストレスにおいても有効であるが、乾燥ストレスについては *EF1* と *tubulin* 遺伝子を用いる必要があることも確かめられ、ストレスの種類によって用いる reference genes を変える必要性があることを明らかとしている。次いで実際に *60S rRNA* と *actin* 遺伝子を reference genes として‘*Bangia*’ sp. ESS1 の窒素輸送体遺伝子の発現解析を行ったところ、全ての *AMT1* および *DUR3* 遺伝子の発現が色落ちを引き起こす窒素欠乏ストレスにより誘導されたが、そのパターンが遺伝子ごとに異なっていた。そのため、‘*Bangia*’ sp. ESS1 の *AMT1* および *DUR3* 遺伝子には窒素欠乏応答における役割分担があると推察された。なお、*NRT2* 遺伝子の発現誘導は見られず、これはスサビノリと同じであり、誘導的な発現が見られる陸上植物の *NRT2* 遺伝子とは異なっていた。

以上のように、本研究によってアマノリにおける窒素輸送体遺伝子に関する新規の知見が多く見いだされ、アマノリにおける窒素欠乏応答の理解が促進された。特に、窒素欠

乏誘導的遺伝子発現と色落ちの関連が明確になったことから、今後その発現制御機構の解明を行うことで色落ち対策に有効な知見が得られると期待できる。このように、本研究はアマノリにおける窒素輸送体遺伝子に関する多くの新規で基礎的な知見を見出しており、さらにノリ養殖業が直面している色落ち問題の軽減に向けた基礎研究の重要性を示唆していることから、審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位取得の資格のあるものと判定した。