HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the early physiologial responses governing heat stress-inducible gene expression in the red alga Neopyropia yezoensis [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	HO, KHOA VIET
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第15123号
Issue Date	2022-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/87553
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Ho_Viet_Khoa_review.pdf, 審査の要旨

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：Ho Viet Khoa

審査委員	主査　教授	細川　雅史
	副査　教授	水田　浩之
	副査　教授	岸村　栄毅
	副査　教授	三上　浩司（宮城大学）

学 位 論 文 題 目

Studies on the early physiological responses governing heat stress-inducible gene expression in the red alga *Neopyropia yezoensis*

（スサビノリの高温ストレス誘導性遺伝子発現を司る初期生理応答の研究）

高温ストレス応答は、ストレス検知、シグナル伝達、遺伝子発現を含む複雑な生理過程である。しかし、その制御システムは海藻においては正確には理解されていない。本研究では、海産原始紅藻スサビノリ*Neopyropia yezoensis*を研究材料として、紅藻におけるストレス検知に関わる細胞膜の物理状態の変化と遺伝子発現の関連について解析を行った。

まず、高温ストレスで誘導される遺伝子発現の解析を可能にするために、イチマツノリで高温ストレス誘導性遺伝子として見出されている*high temperature response 2*（*HTR2*）遺伝子の2つの相同遺伝子をスサビノリで同定し、*NyHTR2*および*NyHTR2L*と名付けた。これらの遺伝子はウシケノリ綱に特異的なもので、 遺伝子産物は新規のシステイン残基リピートから成るプロテイン・モチーフ（Bangiales cysteine-rich motif、BCR motif）を持つ機能未知のタンパク質である。定量的なmRNA 発現解析により、*NyHTR2*および*NyHTR2L*が高温ストレス誘導性遺伝子であることが判明した。しかし、葉状体を細胞膜流動化剤ベンジルアルコール（BA）で処理しても遺伝子発現は誘導されなかった。一方、すでに高温ストレス誘導性遺伝子として報告されている熱ショックタンパク質70ファミリーの*NyHSP70-1* および*NyHSP70-2*の発現については、高温ストレスとBA処理の両方で誘導されることが確かめられた。さらに、転写補助因子であるmultiprotein-bridging factor 1をコードする*NyMBF1*の発現が高温ストレスによって誘導されることを見出したが、この遺伝子もBA処理によってその発現が誘導された。これらのことは、スサ

ビノリの高温ストレス検知には、膜流動化に依存する経路と依存しない経路が存在し、それらが異なる遺伝子群の発現を別々に制御していることを示している。

スサビノリ葉状体の培養は9：00に点灯、19：00に消灯の短日条件で行っているが、上記の実験における高温ストレスの暴露は12：00から継続的に行っている。実は*NyHSP70-1*以外の遺伝子において上記の高温ストレス誘導的な発現は暴露開始後2時間と8時間の2回ピークを示していた。*NyHSP70-1*の発現は2時間目に一度ピークを迎えるのみであった。この場合、8時間目のピークは消灯後1時間での発現となり、培養を全日条件で行うとそのピークは検出されなかったため、暗処理による発現誘導の可能性が考えられた。そこで、通常培養条件で消灯となる18：00に細胞膜硬化剤であるDMSOを添加したところ、膜流動化依存的な*NyMBF1*と*NyHSP70-2*の発現ピークが消失した。また、全日条件で18：00にBAを添加すると発現のピークが現れた。これらの実験では高温ストレスが継続的に与えられているので、8時間目のピークは消灯による暗条件が細胞膜の流動化を引き起こすことで遺伝子の発現誘導が促されると考えられた。これらのことは、膜流動化を検知することで高温ストレス誘導的な遺伝子が発現するという上記の結果をサポートするものである。なお、*NyHSP70-1*が暗処理による制御を受けない理由は不明である。

膜流動化非依存的な*NyHTR2*と*NyHTR2L*も暗処理によって発現は誘導されるが、この場合、全日条件下でのBA添加では発現が誘導されないが、消灯開始時のDMSO添加で発現が抑制された。これは膜流動化非依存経路が膜硬化剤の影響を受けることを示す予想外の結果であるが、このような応答にクラミドモナスで報告されているDMSOの翻訳阻害効果が関わる可能性があり、今後その検証が求められる。

以上のように、本研究は複数の高温誘導的な遺伝子発現を詳しく解析することによって海藻ではじめて高温ストレス検知システムの多様性を明らかにしたものであり、水棲植物における複雑な高温ストレス応答経路の存在を明確に示したものである。特に、膜流動化依存経路は他の多くの生物の高温ストレス応答でその重要性が示されているが、膜流動化非依存的な経路の知見は得られていないことから、本研究は植物の高温ストレス応答機構における新しい側面を解明した極めて独創性の高いものと言える。また、得られた新規の知見は海藻の高温ストレス応答機構および高温ストレス耐性能獲得機構の詳細な解析の基盤となり、さらに地球温暖化による海水温上昇で被害を受けている海藻の海面養殖業の持続化にも貢献することが期待される。これらを踏まえ、審査員一同は、申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。