

## 論文内容の要旨

申請者氏名 CHIAM NYET CHENG

Nonsense-mediated mRNA Decay (NMD) is a eukaryotic mRNA surveillance mechanism that degrades transcripts with error or specific sequence features. In plants, NMD is shown to be associated with pathogen-related and wounding response and phytohormones such as salicylic acid and jasmonic acid, as well as auxin. In this thesis, the roles for NMD in auxin response of plants are focused on.

The NMD core components are made up of 3 UP-FRAMESHIFT (UPF) proteins, UPF1 (RNA helicase), UPF2, and UPF3 (shuttle protein), of which, *Arabidopsis thaliana* mutants of UPF1 and UPF3, *upf1-1* and *upf3-1*, were analyzed in this study. The RNA short-read and long-read sequencing experiments for wild-type and the *upf* mutants showed that the expression of auxin-related genes, such as *SAUR* and *IAA* genes, are affected significantly in the mutants, suggesting that both UPF1 and UPF3 contribute to auxin response. Root phenotypic observation demonstrated that the roots of *upf* mutants were skewed and significantly wavier than wild-type, especially with the application of IAA. Subsequent gravitropism analysis also revealed that *upf* mutants were possibly defective in gravitropism response. Altogether, these results corresponded well to the molecular evidence obtained, whereby the root phenotypes of *upf* mutants were likely caused by defective auxin response. To strengthen the hypothesis of aberrant auxin response in *upf* mutants, *de novo* shoot organogenesis, which requires exogenous application of auxin and cytokinin, was analyzed, showing that the *upf* mutants showed severe abnormality. Although callus induction was normal in the mutants, the *upf* callus behaved aberrantly during shoot regeneration: massive root-like structures were formed in the mutants. Subsequent morphological and histological analyses revealed that the protuberances of the mutants were grown and elongated much quicker than in wild-type, where the strong GFP signals from DR5rev::GFP reporter (auxin accumulation) were observed in the tip of protuberances of the mutant. In addition, the possibility that splice variants of IAA genes are likely to differently regulated by UPF1 and UPF3 was tested by qRT-PCR analysis. Two splice isoforms of *IAA7* gene, *IAA7.1* and *IAA7.2*, were demonstrated to be differentially regulated in *upf* mutants. Taken together, the data of *de novo* shoot organogenesis successfully conclude that NMD impacts auxin response through regulating some specific auxin-related gene transcripts.

The findings in this work propose the importance of NMD in modulating optimum auxin response required by different developmental stages and/or environmental conditions, through the NMD-eliciting features embedded in transcripts.

- やむを得ない事由[ 図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ( ) ]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 CHIAM NYET CHENG

NMD (Nonsense-mediated mRNA Decay) は、真核生物の mRNA の品質監視機構の一つで、配列の間違いや特定の配列特徴を持つ転写産物を分解する。植物の場合、NMD は、病原体関連や傷害反応、サリチル酸やジャスモン酸、さらにはオーキシンなどの植物ホルモンへの応答に関連していることが示されている。本論文では、植物のオーキシン応答における NMD の役割に注目した。

NMD のコアコンポーネントは、UPF1 (RNA ヘリカーゼ)、UPF2、UPF3 (シャトルタンパク質) の 3 つの UP-FRAMESHIFT (UPF) タンパク質で構成されている。本研究では、UPF1 および UPF3 のシロイヌナズナ変異体 (*upf1-1* および *upf3-1*) の解析を進めた。野生型と *upf* 変異体の RNA ショートリードおよびロングリードシーケンス解析の結果、変異体では *SAUR* 遺伝子や *IAA* 遺伝子などのオーキシン関連遺伝子の発現が大きく影響を受けていることが判明し、UPF1 と UPF3 の両方がオーキシン応答に寄与していることが示唆された。次に根の表現型を観察したところ、*upf* 変異体の根は野生型に比べて強いねじれと波打ちの表現型を示し、とくに *IAA* を添加した場合に顕著であった。また、*upf* 変異体は重力屈性反応にも異常がある可能性が示された。さらに、オーキシンやサイトカイニンの外的作用と関連する *de novo* シュート再生の過程を解析したところ、*upf* 変異体ではカルスの誘導は正常であるものの、カルスからのシュート再生時に巨大な根状構造が形成されるといった異常が生じることが明らかになった。また、*upf* 変異体の根状構造体の原基は野生型に比べてはるかに早く成長すること、オーキシンの蓄積パターンから確かにシュートではなく、不定根が形成されることが見出された。さらに、これまでの知見に基づき、*IAA7* 遺伝子の 2 つのスプライス・アイソフォームについて qRT-PCR 解析を行ったところ、*IAA7.1* と *IAA7.2* の 2 つのスプライス・アイソフォームについて、*upf* 変異体ではその制御が異常となりバリエーションごとに異なる制御を受けていることがわかった。

これら本研究の結果は、様々な発達段階や環境条件で必要とされる最適なオーキシン反応を調節する上で、NMD が極めて重要であることを示唆している。

以上のように、本論文は NMD が植物のオーキシン応答において重要であることを示したもので、学術上、さらには将来的な農作物の改変などの応用上、貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。

やむを得ない事由 [ 図書出版、学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他 ( ) ] により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】