

氏 名 Jong, Lin Wei

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 2245 号

学位授与の日付 2021年3月 24日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 Mechanism regulating multiple fission cell cycle in eukaryotic
algae

論文審査委員 主 査 北野 潤
遺伝学専攻 教授
木村 暁
遺伝学専攻 教授
前島 一博
遺伝学専攻 教授
澤 斉
遺伝学専攻 教授
吉田 大和
東京大学 大学院理学系研究科 准教授

(Form 3)

Summary of Doctoral Thesis

Name Jong, Lin Wei

Title Mechanism regulating multiple fission cell cycle in eukaryotic algae

Several eukaryotic cell lineages proliferate by multiple fission events, during which cells grow to severalfold of their original size and undergo rounds of cell division without intervening growth. For example, the unicellular volvocine green alga *Chlamydomonas reinhardtii* forms two to 32 daughter cells in the mother cell by one to five rounds of successive cell division, and daughter cells hatch out of the mother cell. In this case, the number of successive cell divisions varies depending on the environment. In contrast, in some species, such as multicellular members of volvocine green algae, a defined number of successive cell divisions occur during multiple fission resulting in coenobium (a colony containing a fixed number of cells). The regulatory mechanism of the multiple fission cell cycle has been well studied in *C. reinhardtii*; however, it has remained unclear how the mechanism evolved and resulted in the occurrence of a defined number of successive cell divisions as observed in multicellular volvocine algae. To address this issue, I first examined the relationship between the number of successive cell divisions and cell size at which cells are committed to cell division in three species of volvocine algae. Volvocine algae include unicellular *Chlamydomonas*, four-celled *Tetrabaena*, eight to 32-celled *Gonium* and others, up to *Volvox* spp. which consists of up to 50,000 cells. As shown previously, *C. reinhardtii* was committed to cell division when the cell had grown at least two-fold and underwent one to four successive cell divisions depending on the cellular growth in G1 phase. In contrast, I found that *Tetrabaena socialis* and *Gonium pectorale* produced four and eight daughter colonies by two and three successive divisions, respectively, which were committed to cell division only when the cells had grown four- and eight-fold,

respectively. As previously shown in *C. reinhardtii*, the cell size checkpoint for cell division(s) existed in the G1 phase in *T. socialis* and *G. pectorale*. These results suggest that evolutionary changes in cellular size for commitment largely contributed to the emergence and evolution of multicellularity in volvocine algae.

To assess whether a similar evolutionary change occurred in other lineages of eukaryotic algae and to find a possible common factor contributing to the evolution of multiple fission cell cycle. I also characterized cyanidial red algae, namely, *Cyanidioschyzon merolae*, which proliferates by binary fission, *Cyanidium caldarium*, and *Galdieria sulphuraria*, which form up to four and 32 daughter cells (autospores), respectively, in a mother cell before hatching out. The results showed that a two, four, and seven-fold growth of newly born daughter cells is required to commit to cell division(s) for *C. merolae*, *Cy. caldarium*, and *G. sulphuraria*. In the cyanidial red algae, the cell size checkpoint for cell division(s) existed in the G1 phase, as shown in volvocine green algae. In addition, I found that abnormally enlarged, genetically altered *C. merolae* cells underwent two or more successive cell divisions without intervening growth. These results suggest that commitment cell size contributes to determining the number of successive cell divisions. Moreover, evolutionary changes in commitment cell size probably resulted in the variation of the number of cell divisions in multiple fission cell cycle in cyanidial red algae similar to volvocine green algae.

In order to further assess how the cellular growth is monitored in the G1 phase and whether the cell is committed to cell division, I examined the expression pattern of a potential size protein, G1 cyclin in *C. merolae*. In the budding yeast, G1 cyclin has been suggested to scale with cell size and regulate the commitment point and G1/S transition. I also found that in *C. merolae*, G1 cyclin accumulates in accord with cellular growth and decreases upon cell division. In addition, in the abnormally enlarged *C. merolae* that underwent two or more successive cell divisions without intervening cellular growth, G1 cyclin was stepwisely decreased following the successive cell

divisions. When G1 cyclin was overexpressed in the G1 phase, G1/S transition was accelerated. These results suggest that the G1 cyclin level likely determines the number of successive cell divisions in cyanidiallean red algae. Because the molecular mechanism of G1/S transition is widely conserved in eukaryotes, evolutionary change in this pathway may result in variation of the number of successive cell divisions in multiple fission cell cycle in cyanidiallean red algae and also in other eukaryotic lineages.

博士論文審査結果

Name in Full
氏 名 Jong, Lin Wei

T i t l e
論文題目 Mechanism regulating multiple fission cell cycle in eukaryotic algae

真核生物の中には、分裂によって生じた細胞が4倍以上に成長したのち複数回の連続的な細胞分裂 (multiple fission cell cycle) を示す系統がある。このような連続して起こる細胞分裂によって、定数群体 (Coenobium) が生み出される事例もある。このような連続的に起こる細胞分裂については、緑藻の *Chlamydomonas reinhardtii* で詳しく研究されているものの、細胞分裂を特定の回数だけ行うメカニズム、および、そのような機構の進化過程については殆ど明らかになっていない。

Jongさんは、まず、緑藻ボルボックス類の3種について細胞分裂の数、および、細胞分裂を行う細胞サイズの閾値について研究した。*C. reinhardtii* では、従来報告されていた通り、細胞のサイズが最低2倍になってから分裂し、その回数はG1期の細胞サイズに依存していた。一方、*Tetrabaena socialis* では4倍の細胞サイズ、*Gonium pectorale* では8倍の細胞サイズになった時のみ細胞分裂し、それぞれ4細胞と8細胞を生み出すことを見出した。また、細胞サイズ依存的に分裂するかを決めるチェックポイント (細胞サイズのチェックポイント) は、*C. reinhardtii* で知られていたのと同様、他の2種でもG1期にあることを確認した。

ついで、普遍性を検証するために、紅藻シアニジウム類の複数種・系統を解析した。2細胞を生み出す *Cyanidioschyzon merolae* は2倍、4細胞を生み出す *Cyanidium caldarium* は4倍、4または8細胞を生み出す *Galdieria sulphuraria* は7倍の細胞サイズになって初めて分裂することを明らかにした。細胞サイズのチェックポイントは、ボルボックス類と同様にG1期にあることを見出した。加えて、遺伝子操作で細胞サイズを大きくした *C. merolae* は、2回以上の分裂を連続的に行うことを見出した。この結果は、チェックポイントでの細胞サイズが連続的細胞分裂の回数を決めていることを示唆するものである。

C. merolae において、G1期における細胞成長がどのようにモニタリングされているかを明らかにするためにG1サイクリンに着目した。出芽酵母では、G1/S移行のコミットメントに関与しているG1サイクリンの濃度が細胞の成長に伴って増加しているという先行研究があったからである。*C. merolae* でも、細胞の成長に応じてG1サイクリン量は増加し、細胞分裂で減少することを見出した。加えて、遺伝子操作で細胞サイズを大きくした *C. merolae* では、連続的な細胞分裂に応じて、G1サイクリン量は段階的に減少した。G1サイクリンを過剰発現させると、G1/S移行が促進した。これらの結果から、*C. merolae* においても、G1サイクリン量が分裂回数を決定しているのではないかと考察した。

以上のように、Jongさんは、緑藻ボルボックス類と紅藻シアニジウム類において連続的な細胞分裂の回数を規定する要因としてG1期の細胞サイズを見出し、シアニジウムにおいては、G1サイクリン量が細胞サイズの指標となっている可能性を提示した。これらの成果はいずれも、緑藻ボルボックス類と紅藻シアニジウム類における連続的な細胞分裂に関

する新しい知見であり、細胞分裂や多細胞生物の進化を考える上でも貴重な知見となることが期待される。以上の理由により、審査委員会は、全会一致で本論文が学位の授与に値すると判断した。