

様 式 F-7-1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成30年度）

			機関番号	14603
所属研究機関名称 奈良先端科学技術大学院大学				
研究 代表者	部局	研究推進機構		
	職	特別研究員（RPD）		
	氏名	宮島 かおり（古田かおり）		

1. 研究種目名 若手研究(B) 2. 課題番号 17K15139

3. 研究課題名 維管束篩部分化における、篩要素と篩伴細胞の同調性と細胞間コミュニケーションの解析

4. 補助事業期間 平成29年度～令和2年度

5. 研究実績の概要

維管束植物の維管束篩部組織では、光合成産物などの輸送管である篩要素細胞と、篩要素細胞に輸送物質をロード・アンロードする篩伴細胞は、機能的に密接に連絡している。しかし、篩要素細胞と篩伴細胞が、その細胞分化過程でどのように機能的な緊密性を成立させるかはほとんど明らかになっていない。本年度は、篩要素細胞と篩伴細胞の細胞分化過程における篩要素細胞と篩伴細胞間の原形質連絡の発達様式を明らかにするために、3次元走査型電子顕微鏡画像から3Dモデリングや定量的な解析を行うことを計画していたが、これについては、取得した画像が40nmごとの切片であり3Dモデル化に適していなかった。そこで、原形質連絡を可視化できる分子マーカーを用いた解析を行うことに変更し、マーカーの探索と作製を行った。

また本年度、篩要素と篩伴細胞の細胞分化におけるシンプラスト輸送経路の重要性を検証するために、篩要素と篩伴細胞間のシンプラスト経路を阻害したときの、篩要素の細胞分化異常を可視化するラインを作製した。

また本研究では、篩伴細胞で発現する新規遺伝子SEEN1が細胞非自律的に篩要素の最終分化を制御するという仮説を立てていたが、昨年度までの研究により、SEEN1は篩要素でも一過的に発現し、細胞自律的に篩要素の最終分化を制御していることが明らかになった。そこで本年度は、SEEN1の篩要素細胞分化における分子機能を調べるために、seen1突然変異体の表現型を記述する篩要素細胞分化マーカーを探索し作製した。また、篩要素と篩伴細胞の細胞間コミュニケーションを制御する新規因子を同定するために、篩伴細胞で発現する因子を数種類選び、これらの機能を阻害する系を新たに作製した。一部のラインでは植物体の成長が顕著に抑制され、さらなる解析が期待される。

6. キーワード

植物 シロイヌナズナ 維管束篩部 篩要素 篩伴細胞 細胞間コミュニケーション 細胞分化の同調性

7. 現在までの進捗状況

区分 (2) おおむね順調に進展している。

理由

研究計画では、SEEN1を介した篩要素と篩伴細胞の細胞間コミュニケーション機構の解明として、SEEN1の分子生物学的解析とseen1突然変異体の篩要素と篩伴細胞の細胞形態の詳細な解析を計画していた。SEEN1については予想に反して篩要素における細胞自律的な機能が明らかになったが、篩要素細胞分化の新規制御因子であるため、seen1突然変異体のSBF-SEMを用いた3次元的走査型電子顕微鏡解析を行った。また、SEEN1は篩要素において細胞自律的な細胞分化制御因子であったため、篩要素と篩伴細胞の細胞間コミュニケーション機構を制御する新規因子を探索するために、篩伴細胞で発現するいくつかの候補遺伝子を機能阻害し、篩要素の細胞分化への影響を調べる系を作製した。また、篩要素の細胞分化過程におけるシンプラスト経路の重要性を検証する実験を計画していたが、計画通り、篩要素と篩伴細胞間のシンプラスト経路を阻害し、篩要素の細胞分化への影響を調べる系を作製した。

また、遺伝子発現レベルでの篩要素と篩伴細胞の細胞分化の同調性の詳細な解明を計画していた。これについて、計画通り、篩要素と篩伴細胞の細胞分化を同時可視化できるマーカーを作製し解析している。また、篩要素と篩伴細胞の細胞間の原形質連絡の構築過程の解明も計画していたが、これについては計画通り、SBF-SEMを用いた3次元的走査型電子顕微鏡解析により、篩要素と篩伴細胞間の原形質連絡が徐々に発達する様子を明らかにした。本年度はさらに篩要素と篩伴細胞間の原形質連絡の発達を分子レベルで記述するマーカーの探索と作製を行った。

2 版

8. 今後の研究の推進方策

これまでに、細胞分化に伴う原形質連絡の発達について、節要素と節伴細胞間の原形質連絡を可視化できると期待される分子マーカーを導入した形質転換体を作製しており、今後観察を行う。これにより、節要素と節伴細胞の細胞機能において重要な原形質連絡が、細胞分化プロセスにおいてどのように形成されるかを分子レベルで記述する。

また、節要素の細胞分化におけるSEEN1の機能を明らかにする目的で、新規の節要素細胞分化マーカーを作製している。今後は、これらの形質転換体の確立と観察を行う。また、節要素と節伴細胞の細胞間コミュニケーションを制御する新規因子を見出すために、節伴細胞の候補因子を機能阻害したときに、節要素の細胞分化に異常が現れるかどうかを可視化できるラインを作製した。今後これらの形質転換体を観察する。

またこれまでに、節要素の細胞分化において、原形質連絡を介した細胞間コミュニケーションが重要であるかどうかを検証するために、節要素と節伴細胞間の原形質連絡を阻害したときの、節要素の細胞分化異常を可視化するラインを作成している。今後は、これらの形質転換体を観察する。

また、引き続き、節要素と節伴細胞の細胞分化を同時可視化できるマーカーを解析し、遺伝子発現レベルでの節要素と節伴細胞の細胞分化の同調性を詳細に記述する。

今後、これまでに得られた結果や上述の実験から得られる結果をとりまとめて論文を作成し、研究成果の発表を行う。

9. 次年度使用が生じた理由と使用計画

理由：本年度は、主に形質転換体の作製と観察を計画していたが、産前産後の休暇と育児休暇に伴い研究を中断したため、植物の栽培・観察を行う計画に変更が生じた。また、産前産後の休暇に伴い、学会での研究発表の予定や実験補助員の雇用期間に変更が生じた。

使用計画：研究再開後は、主にこれまでに作成した形質転換体の観察を行う。ラインの選別も含めたくさんの植物体を播種・育成するため、植物栽培のための物品・試薬が必要である。また、形質転換体の確認や作製など分子生物学的な実験に用いる物品・試薬や、顕微鏡観察に必要な物品・試薬の購入などに使用する。また、研究再開後は最終年度であるため、学会発表や論文投稿など研究成果の発表に関わる費用にも使用する予定である。

10. 研究発表（平成30年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 古田かおり、宮島俊介、Ilya Belevich, Yka Helariutta, Eija Jokitalo, 中島敬二
2. 発表標題 維管束の節要素における核消失を伴う細胞分化の新規制御機構
3. 学会等名 日本植物学会 第82回大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

11. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件／うち取得0件）

12. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	University of Cambridge	—	—	—
フィンランド	University of Helsinki	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—

1 4. 備考

—