

平成26年度科学研究費助成事業 実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

2. 研究機関名

奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名

基盤研究(B)

4. 研究期間

平成24年度～平成27年度

5. 課題番号

2	4	3	7	0	0	2	2
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名

シロイヌナズナ初期胚発生におけるパターン形成の制御機構

7. 研究代表者

研究者番号								研究代表者名	所属部局名	職名
8	0	2	7	3	8	5	3	ナカジマ ケイジ	バイオサイエンス研究科	教授
								中島 敬二		

8. 研究分担者

[illegible]

9. 研究実績の概要

植物の初期発生を制御する機構は、ほぼ未解明である。我々は植物特有のRKD転写因子ファミリーの1つであるRKD4が、初期胚発生を制御する鍵因子であることを明らかにした。本研究課題では、植物初期発生の制御メカニズムを明らかにすることを目的として、RKD遺伝子ファミリーの機能解析を行った。

1. シロイヌナズナにおけるRKD遺伝子ファミリーの機能: シロイヌナズナの5つのRKD遺伝子のうち、rk4以外の単独変異体には異常が見られないとされていた。今回RKD2の新たな変異アレルを得て解析したところ、この変異アレルが実生の生育に半優性の表現型を示すことが分かった。RKD2は卵細胞で強く発現しているが、この表現型は成熟植物にまで見られた。他の遺伝子の変異による影響も排除できないが、2回の戻し交雑後も同様の異常が見られる。現在相補実験を行っている。

2. RKD4の下流でリプログラミングに機能する遺伝子群の発現・機能解析: RKD4の過剰発現を誘導した実生のトランスクリプトーム変化をマイクロアレイを用いて解析した。誘導5日後には、全ゲノムの4分の1にあたる遺伝子の発現が大きく発現変化していた。これまでRKD4の過剰発現でヒストンH3K27のメチル化レベルが変化する事が明らかとなっていたが、このヒストン修飾の変化は、RKD4の過剰発現誘導3日目以降の遅い応答であることが明らかとなった。

3. RKD機能の進化的起源: 陸生植物進化の基部分にあるゼニゴケのゲノムにはRKD相同遺伝子が1つ存在する。この遺伝子は卵や精子で強く発現しており、ソックアウトすると卵細胞の分化が阻害され、精子の成熟が同調的に起こらなくなる傾向が見られた。以上のことからRKD遺伝子機能の進化的起源が、生殖細胞の分化にあることが示唆された。

10. キーワード

(1) 植物

(2) 発生・分化

(3) 胚発生

(4) シグナル伝達

(5) 発現制御

(6)

(7)

(8)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(1 / 4)

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

RKDファミリーは、シロイヌナズナにおいては5つの遺伝子からなっている。このうちRKD4遺伝子の変異体は初期胚のパターン形成に異常を示すものの、他の4遺伝子の変異体は野生型植物と同様に生育するために、これまで生物学的な機能は不明であった。今回、RKD2遺伝子の新しい変異アレルの単離に成功し、これが形態異常を示したことから、今後はこの変異アレルの解析を通じてRKD遺伝子ファミリーの機能解析が進むことが期待される。さらにモデルコケ植物であるゼニゴケを用いた実験で、ゲノム上に唯一存在するRKD遺伝子のノックアウト変異体の単離に成功した。この変異体が卵細胞の分化に明確な異常を示したことから、植物の初期発生におけるRKD遺伝子ファミリーの機能に関する理解が大いに深まった。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

ゼニゴケのRKD遺伝子が卵細胞の分化に必須であることが明らかとなったが、これが真に植物に保存された機能であるかを検証する必要がある。シロイヌナズナのRKD1とRKD2は卵細胞で強く発現していることが確認されているが、機能解析は行われていなかった。今回、シロイヌナズナRKD2の新しい変異アレルが単離され、それらの実生の形態に異常が見られた。今後はこの異常が、卵など生殖細胞の異常に由来するものであるのかを検証する必要がある。まず、このrkd2アレルに卵細胞や雌性配偶体のマーカー遺伝子を導入し、その発現を調べる。さらにrkd1との二重変異体を作製して解析する。

一方、ゼニゴケについても野生型とRKDのノックアウト株を用いて、比較トランスクリプトーム解析を行い、卵細胞の分化や機能発現に必要な遺伝子を見つけ出す。さらにプロモータースワップ実験により、シロイヌナズナとゼニゴケのRKD遺伝子が交換可能であるかを検証する。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

消耗品の使用が予定よりも少なかった。ポストドクの雇用経費が当初の見込みよりも少なく済んだ。

(使用計画)

今年度の繰越金は、おもに次年度の研究補助員の雇用に充当する。

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(0)件 うち査読付論文 計(0)件

著 者 名		論 文 標 題			
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					

(学会発表) 計(3)件 うち招待講演 計(1)件

発 表 者 名		発 表 標 題	
Keiji Nakajima		Comparative studies of female gametogenesis in land plants	
学 会 等 名		発表年月日	発 表 場 所
Marchantia Workshop 2014(招待講演)		2014年12月08日～2014年12月10日	神戸大学(兵庫県神戸市)

発 表 者 名		発 表 標 題	
厚井聡、久永哲也、嶋村正樹、石崎公庸、河内孝之、中島 敬二		ゼニゴケの生殖におけるRWP-RKファミリー遺伝子MpRKDの機能	
学 会 等 名		発表年月日	発 表 場 所
第56回日本植物生理学会年会		2015年03月16日～2015年03月18日	東京農業大学(東京都世田谷区)

発 表 者 名		発 表 標 題	
Tetsuya Hisanaga, Keiji Nakajima		An enhancer trap screening to identify genes regulating egg cell specification and differentiation in Marchantia polymorpha	
学 会 等 名		発表年月日	発 表 場 所
第56回日本植物生理学会年会		2015年03月16日～2015年03月18日	東京農業大学(東京都世田谷区)

〔図書〕 計(0)件

著 者 名	出 版 社		
書 名	発行年	総ページ数	

14.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.備考