

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 26 年度）

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 挑戦的萌芽研究 4. 補助事業期間 平成 26 年度～平成 27 年度
5. 課 題 番 号 2 6 6 5 0 1 0 0
6. 研究課題名 ライブイメージングと「くっつきアッセイ」～心皮合着過程の新しい解析手法の開発
7. 研究代表者

研究 者 番 号	研究 代 表 者 名	所 属 部 局 名	職 名
9 0 3 1 1 7 8 7	アイダ ミツヒロ 相田 光宏	バイオサイエンス研究科	准教授

8. 研究分担者

研究 者 番 号	研究 分 担 者 名	所属研究機関名・部局名	職 名

9. 研究実績の概要

心皮の接着のアッセイ法を確立するため、FAA固定、エタノール酢酸固定、および無固定の三種類の条件で調整した野生型サンプルについて臨界点乾燥を行い、金属蒸着処理後、Quanta 250電子顕微鏡の高真空モードを用いて観察を行ったところ、接触部の細胞が互いにひっぱられたような形状を示した。また、金属蒸着処理を行わないサンプルでも同様の画像が得られたことから、この像は蒸着された金属によるアーティファクトではないことが明らかになった。さらに、この引っ張られた形状が細胞壁の何らかの成分を介した相互作用に夜ものかどうかを明らかにするため、固定前に心皮をPectolyase (Y-23)で処理した。処理後のサンプルと未処理のサンプルそれぞれについて臨界点乾燥・金属蒸着を行って高真空モードで観察したところ、処理したサンプルでは細胞同士がひっぱられるような像がほとんど見られなくなった。一方、細胞同士が引っ張り合う形状は、本来の接着がおこなないがく片同士や、茎頂分裂組織とがく片の間、さらに心皮と雄蕊原基の間でしばしば観察され、その程度は若い組織であるほど大きくなっていた。このことは、細胞同士の引っ張りあう形状が、固定操作以後のどこかの段階で生じた可能性を示している。

さらに心皮融合部のライブイメージングを行うため、pATML1::NLS:3xEGFPおよびpATML1::CYCB1-N::NLS:3xEGFPの二種類のマーカーを用い、多光子レーザー顕微鏡 (Leica SP5) を用いてイメージングを行った結果、接触部の良好な蛍光画像を得ることに成功した。

10. キーワード

(1) 植物	(2) 細胞・組織	(3) 発生・文化	(4)
(5)	(6)	(7)	(8)

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)

くっつきアッセイについて細胞同士が引っ張られるような像が、Pectolyase処理によって消失することを示すことで、このような細胞の形状が細胞壁の成分に依存しておこることを明らかに出来、実際に細胞の接着の有無のアッセイとして利用できる見通しが開けた。また、pATML1::NLS:3xEGFPのマーカーを用いて、心皮接着部位の良好な共焦点画像を得ることが出来た。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

くっつきアッセイにおいて、心皮の接触部以外での接着を抑制するため、これまでと異なる固定方法 (グルタルアルデヒド-オスミウム酸による固定) を検討する。また、蛍光染色による生組織を用いたくっつきアッセイ法も新に試みる。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

(使用計画)

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(4)件 うち招待講演 計(0)件

発 表 者 名	発 表 標 題	
Tsujino R, Ichikawa H, Iwano M, Takayama S, Aida M.	Carpel closure by post-genital protodermal fusion in Arabidopsis thaliana.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
5th NIBB-MPIZ-TLL Symposium, Horizons in Plant Biology	2014年11月24日～2014年11月26日	Max Planck Institute for Plant Breeding Research(ドイツ)

発 表 者 名	発 表 標 題	
相田光宏	表皮と表皮の出会い～心皮の後天的融合について	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
遺伝学研究所研究会「イネ分子遺伝学への期待」	2014年10月17日～2014年10月18日	国立遺伝学研究所(静岡県三島市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
市川ひとみ, 岩野恵, 高山誠司, 相田光宏	シロイヌナズナ心皮における後天的融合過程の解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本植物学会大78回大会	2014年09月16日～2014年09月16日	明治大学生田キャンパス(神奈川県川崎市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
市川ひとみ、岩野恵、辻野理恵子、高山誠司、相田 光宏	表皮と表皮の出会い～心皮の後天的融合について	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
植物電子顕微鏡若手ワークショップ2014	2014年12月05日～2014年12月05日	理化学研究所 横浜事業所 交流棟ホール(神奈川県横浜市)

〔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

植物発生学(相田研究室)のホームページ

<http://bsw3.naist.jp/aida/?cate=385>

植物発生学(相田研究室)

<http://bsw3.naist.jp/courses/courses108.html>