

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）（令和元年度）

| | | | | |
|----------|---------------|--------|------|-------|
| 所属研究機関名称 | 奈良先端科学技術大学院大学 | | 機関番号 | 14603 |
| 研究代表者 | 部局 | 研究推進機構 | | |
| | 職 | 特任准教授 | | |
| | 氏名 | 吉田 聰子 | | |

1. 研究種目名 挑戦的研究（萌芽）

2. 課題番号 19K22432

3. 研究課題名 花粉を介した植物への新しい遺伝子導入法の開発

4. 補助事業期間 令和元年度～令和3年度

5. 研究実績の概要

本研究の目的は、革新的な植物への遺伝子導入法を開発することである。次世代シーケンサーによるシーケンス技術の革新によって多様な植物種のゲノム決定が比較的容易になり、ゲノム編集技術の出現により、多様な植物種、作物種の遺伝子変更が理論上可能となった。しかし、細胞壁を持つ植物細胞への遺伝子導入は容易ではない。遺伝子導入にはアグロバクテリウムを介した方法やパーティクルガンを用いた方法などが知られているが、いずれも遺伝子を導入した細胞やカルスからの植物個体の再分化が必要で、再生の条件を検討するにあたって膨大な時間が必要である。そのため、多様な植物種に応用できる遺伝子導入技術の開発が望まれる。本研究では、花器官および花粉に着目した非モデル植物における新しい遺伝子導入法の確立を目的とする。本年度は、ハマウツボ科寄生植物コシオガマを用いて、花器官にアグロバクテリウム菌液を垂らすことによるフローラルドロップ法を用いた形質転換系を検討した。レポーター遺伝子を用いてステージの異なる花に対してフローラルドロップ法を行うことにより、遺伝子の導入効率を求めた。GUS遺伝子を導入した花においては、蕾の半分程度に花びらが確認できるStage Iにおいて花粉で強いGUS染色が認められた。導入効率は30%ほどであり、それより遅い段階のStage IIにおいては5%しかポジティブなものが見られなかつた。しかし、GFPやRFPなどの蛍光タンパク質をコードする遺伝子を導入した場合には、花粉での蛍光を観察することができなかつた。この結果はGUSによる染色が偽陽性である可能性を示している。

6. キーワード

形質転換法 フローラルドロップ 寄生植物 花粉

7. 現在までの進捗状況

区分 (3) やや遅れている。

理由

花粉での蛍光レポータータンパク質の発現が確認できず、GUS染色が偽陽性である可能性が示された。レポーターポジティブな花粉の選別は難しいため、一過的な導入方法を用いたゲノム編集技術の開発を検討する。

8. 今後の研究の推進方策

花粉および花器官への一過的な遺伝子導入によるゲノム編集技術の開発を検討する。形質転換方法としては、フローラルドロップ法だけではなく、pollen magnetofectionやポンパードメント法を検討する。

9. 次年度使用が生じた理由と使用計画

技術補佐員の雇用を予定していたが、適当な人材がいなかったため雇用を見送った。その分次年度使用額が生じた。

10. 研究発表（令和元年度の研究成果）

[雑誌論文] 計3件 (うち査読付論文 3件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 3件)

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 1. 著者名 Wada, S., Cui, S. and Yoshida, S. | 4. 卷 10 |
| 2. 論文標題 Reactive Oxygen Species (ROS) Generation is indispensable for haustorium formation of the root parasitic plant <i>Striga hermonthica</i> . | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers Plant Sci. | 6. 最初と最後の頁 328 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.3389/fpls.2019.00328 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| 1. 著者名 Goyet, V., Wada, S., Cui, S., Wakatake, T., Shirasu, K., Montiel, G., Simier, P. and Yoshida S. | 4. 卷 10 |
| 2. 論文標題 Haustorium Inducing Factors for Parasitic Orobanchaceae. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers Plant Sci. | 6. 最初と最後の頁 1056 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.3389/fpls.2019.01056 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| 1.著者名 Yoshida, S., Kim, S., Wafula, E. K., Tanskanen, J., Kim, Y.-M., Honaas, L., et al. | 4.巻 29 |
| 2.論文標題 Genome sequence of <i>Striga asiatica</i> provides insight into the evolution of plant parasitism. | 5.発行年 2019年 |
| 3.雑誌名 Curr. Biol. | 6.最初と最後の頁 3041-3052 |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.cub.2019.07.086. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計6件(うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

| |
|--------------------------------------------------------------------|
| 1.発表者名 Satoko Yoshida |
| 2.発表標題 Genetic basis for host and parasitic plant communication |
| 3.学会等名 The 15th World Congress on Parasitic Plants(招待講演)(国際学会) |
| 4.発表年 2019年 |

| |
|------------------------------------------------------------------------|
| 1.発表者名 Satoko Yoshida |
| 2.発表標題 Vascular connection between parasitic plants and host plants |
| 3.学会等名 Plant Vascular Biology 2019(招待講演)(国際学会) |
| 4.発表年 2019年 |

| |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.発表者名 Songkui Cui, Tomoya Kubota, Yuko Yoshimura, Ken Shirasu, Satoko Yoshida |
| 2.発表標題 Ethylene signaling mediates fine-tuning of host infection by parasitic plants |
| 3.学会等名 Molecular Plant Microbe Interaction(国際学会) |
| 4.発表年 2019年 |

1版

1. 発表者名

Satoko Yoshida

2. 発表標題

Signal exchanges between parasitic plants and host plants to establish plant-plant connection

3. 学会等名

JSPP2020 (招待講演)

4. 発表年

2020年

1. 発表者名

谷澤美杜里、Songkui Cui、吉田聰子

2. 発表標題

コシオガマにおける花粉を用いた形質転換法の検討

3. 学会等名

日本植物学会第83回大会

4. 発表年

2019年

1. 発表者名

和田 将吾, 清水 崇史, Songkui Cui, 峰 隆之, 吉田 聰子

2. 発表標題

寄生植物ストライガの新規吸器誘導物質の探索

3. 学会等名

日本植物学会第83回大会

4. 発表年

2019年

〔図書〕 計0件

1.1. 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)

1.2. 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

-

1.4. 備考

-