

様式 C - 7 - 1

令和元年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

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 先端科学技術研究科 職 教授 氏名 伊藤 寿朗

1. 研究種目名 新学術領域研究（研究領域提案型）

2. 課題番号 19H04865

3. 研究課題名 蜜腺の形成と消失機構

4. 研究期間 令和元年度～令和2年度

5. 領域番号・区分 3806

公募研究

6. 研究実績の概要

本研究の目的は、モデル植物シロイスナズナをもじいて、いまだ解明の進んでいない蜜腺形成と消失の遺伝子ネットワーク機構を解明することである。まず、蜜腺の形成にとって必須の遺伝子であるCRABS CLAW (CRC)転写因子を発現するタグ付きの形質転換植物を作成するため、crc変異体にgCRC-GFPが導入された植物で蜜腺欠損の表現型が回復しているかを確認した。蜜腺が発達する領域で CRC-GFP融合タンパク質の蛍光が観察され、野生型と同様に蜜腺が発達した。この結果から、CRC-GFPは蜜腺で正常に機能すると考えられた。さらに、CRC-GFPは蜜腺の発達後期まで発現を継続したことから、CRCは蜜腺原基の形成を促進するだけではなく、蜜腺の分化や蜜の分泌も制御している可能性が示唆された。さらに、蜜腺形成に作用するアリゼーター遺伝子を同定するために、野生型の発生段階に沿った蜜腺領域と蜜腺の形成されないcrc突然変異体とで、発現プロファイリングを行った。並行して、CRC転写因子のChIP-seq解析を行うことにより、CRCの直接のターゲット遺伝子の同定を行った。これにより蜜腺形成のアリゼーター（realizator具現化）遺伝子の候補を複数得た。その中には、蜜腺の分化を制御する転写因子をコードするMYB DOMAIN PROTEIN 57遺伝子や、蜜の分泌に必要なスクロース輸送体をコードするSWEET 9遺伝子、オーキシン輸送タンパク質PIN-FORMED1タンパク質の安定性に関わるMACCI-BOU4(MAB4)遺伝子が見られた。さらにmab1変異体における蜜腺を観察したところ、野生型よりも有意に大きさが小さくなっていた。現在、MAB1遺伝子のCRCによる発現制御機構、およびその下流の制御機構の解析を進めている。

7. キーワード

遺伝子発現 蜜腺 生殖 オーキシン

8. 現在までの進捗状況

区分	(1) 当初の計画以上に進展している。
理由	すでに、crc変異体バックグラウンドでgCRC-GFP相補体を得ており、蜜腺形成における発現を確認している。また、野生型とcrc変異体を用いたRNA-seqより、有意に発現が変化する遺伝子を同定している。さらにgCRC-GFP crcラインを用いてChIP-seqを行うことにより、CRCの直接のターゲット遺伝子を同定している。その中でオーキシンの制御に関わるMAB1遺伝子に着目して、その変異体において蜜腺における表現型を同定している。蜜腺形成の鍵遺伝子の同定として、論文作成が行える段階に近い。

9. 今後の研究の推進方策

以下の項目に沿って、蜜腺としてのアイデンティティである球状形態の構築、蜜の輸送、生成、分泌などをつかさどるリアリゼーター（realizator具現化）遺伝子のうち、MAB4遺伝子に着目して、その制御機構を探る。1) CRCによるMAB4遺伝子の発現制御機構の解明のため、CRCのもつZinc fingerドメインおよびhelix-loop-helixドメインの欠損株を作成して、結合性および相補能を探る。2) MAB4遺伝子の蜜腺発達におけるプロモーター解析を行う。3) MAB4の作用機構の解明のために、オーキシンレポーターや輸送体PIN6レポーターの発現を野生型およびmab4変異体において比較解析する。

さらに、蜜腺の崩壊過程における解析も進める。4) 開花後の野生型の花を用いて、時間軸に沿った蜜腺の表現型解析、核の崩壊、クロマチンの凝縮、ミトコンドリア膜の分解、液胞の崩壊および蛍光顕微鏡をもじいたDNAの断片化を可視化することで、シロイスナズナにおける蜜腺のプログラム細胞死を時間軸にそって記述する。5) 上記解析において、時間軸に沿ったCRCレポーター遺伝子、ショ糖のパイオセンサー、ショ糖トランスポーター、および細胞死マーカー遺伝子（DNA分解酵素BFM1、プロテアーゼCEP1、それら上流の転写因子であるKIRA1、ORE1）を活用することで、受精後の蜜腺の消失過程における分子マーカーの発現と生殖のイベントをリンクさせる。6) 開花から蜜腺の崩壊までの時間軸に沿ったRNA-seqおよび、メタボローム解析を行うことにより、プログラム細胞死にいたる鍵となるシグナルの同定とその下流のシグナル伝達経路の解明をめざす。

10. 研究発表（令和元年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著論文 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Lee Ze Hong、Tatsumi Yoshitaka、Ichihashi Yasunori、Suzuki Takamasa、Shibata Arisa、Shirasu Ken、Yamaguchi Nobutoshi、Ito Toshiro	4. 卷 7
2. 論文標題 CRABS CLAW and SUPERMAN Coordinate Hormone-, Stress-, and Metabolic-Related Gene Expression During Arabidopsis Stamen Development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Ecology and Evolution	6. 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） 10.3389/fevo.2019.00437	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 Ito Toshiro	4. 卷 60
2. 論文標題 Functional Dissection of Class C Genes in Rice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1164 ~ 1165
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcz093	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shang Erlei、Ito Toshiro、Sun Bo	4. 卷 14
2. 論文標題 Control of floral stem cell activity in Arabidopsis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Signaling & Behavior	6. 最初と最後の頁 1659706 ~ 1659706
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/15592324.2019.1659706	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1.著者名 Lee Ze Hong、Hirakawa Takeshi、Yamaguchi Nobutoshi、Ito Toshiro	4.巻 20
2.論文標題 The Roles of Plant Hormones and Their Interactions with Regulatory Genes in Determining Meristem Activity	5.発行年 2019年
3.雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6.最初と最後の頁 4065 ~ 4065
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20164065	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1.発表者名 伊藤 寿朗
2.発表標題 Epigenetic regulation in floral meristem determinacy
3.学会等名 2019 Collaborative Research Meeting National Institute of Genetics (国際学会)
4.発表年 2019年

1.発表者名 伊藤 寿朗
2.発表標題 Multistep termination of floral stem cell activities
3.学会等名 ICAR2019(The 30th International Conference on Arabidopsis Research) (国際学会)
4.発表年 2019年

1.発表者名 伊藤 寿朗
2.発表標題 Auxin-mediated termination of floral stem cell activities
3.学会等名 Principles of pluripotent stem cells underlying plant vitality (招待講演) (国際学会)
4.発表年 2019年

1. 発表者名
伊藤 寿朗

2. 発表標題
花の夢さの分子機構

3. 学会等名
2019年度 近畿植物学会講演（招待講演）（国際学会）

4. 発表年
2019年

1. 発表者名
伊藤 寿朗

2. 発表標題
花幹細胞の増殖終結機構におけるオーキシン作用の二面性

3. 学会等名
第61回日本植物生理学会大阪年会

4. 発表年
2020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

-