平成21年度科学研究費補助金実績報告書（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 特定領域研究 4. 研究期間 平成21年度 ～ 平成22年度

5. 課題番号 2 1 0 2 4 0 0 7

6. 研究課題名 種内雑種を利用した対立遺伝子間の優劣に関わる DNA メチル化機構の研究

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
2 0 2 9 4 2 8 3	フリガナ シバ ヒロシ 柴 博史	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
	フリガナ		

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

筆者が進めてきた自家不和合性の花粉側S対立遺伝子間で見られる優劣性発現機構の研究により、ゲノムの新規メチル化というエピジェネティックな制御による優劣性決定機構の実態が明らかとなりつつある。こうした遺伝子発現制御が一般的な現象であることを示す為、本研究課題では、エピゲノム解析技術を駆使して、シロイヌナズナ種内雑種におけるメチル化の実態とそれに係る遺伝子発現様態を比較統合解析することで、対立遺伝子間におけるDNAメチル化を介した片側対立遺伝子特異的な発現調節の実例を網羅的に探索した。平成21年度は、Col-0株、C24株およびF₁雑種の実生からpolyA RNAを抽出し、次世代シーケンサーでその遺伝子発現パターンを網羅的に解析した。その結果、Col-0株で21453遺伝子、C24株で21616遺伝子、F₁雑種で22288遺伝子が発現している事が示された。その中でCol-0株あるいはC24株で特異的な発現を示す遺伝子は、全発現遺伝子の約4%を占め（Col-0株で726遺伝子、C24株で889遺伝子）、それ以外は共に発現していた。一方、F₁雑種の発現は、97.6%（21754遺伝子）がCol-0株もしくはC24株の両方あるいはいずれか一方で発現が見られたが、2.6%（534遺伝子）の遺伝子がF₁雑種で特異的に発現していた。また93遺伝子についてはCol-0株もしくはC24株で発現が見られたものの、F₁雑種では発現が見られなかった。

DNAメチル化の有無が、遺伝子発現に影響する事例がどれ位あるかを調べるために、維持型メチル化酵素MET1をコードする遺伝子を欠損した変異株（*met1*変異株; Col-0株由来）の実生で発現する遺伝子を調べ、野生型との異同を見た。その結果、*met1*変異株では21644遺伝子で発現が見られ、そのうちトランスポゾン様配列を除く902遺伝子が*met1*変異株で、711遺伝子がCol-0株で特異的に発現していた。この結果を基にCol-0株あるいはC24株で特異的な発現を示す遺伝子の中で、DNAメチル化が影響する可能性がある遺伝子を探索したところ、Col-0株特異的発現遺伝子の44.1%（320遺伝子）、C24株特異的発現遺伝子の40.8%（363遺伝子）が野生株と*met1*変異株間で発現に違いが見られた遺伝子と一致した。

10. キーワード

(1) DNAメチル化	(2) 種内雑種	(3) 優劣性
(4) 対立遺伝子	(5)	(6)
(7)	(8)	

(裏面に続く)

11.研究発表（平成21年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（3）件 うち査読付論文 計（2）件

著者名	論文標 題			
Shiba, H.	Epigenetic control of dominance relationships among self-incompatibilityalleles by DNA methylation			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Plant Morphology	無	in press	2010	

著者名	論文標 題			
Isokawa, S.	Novel self-compatible lines of <i>Brassica rapa</i> L. isolated from the Japanese bulk-populations			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Genes Genet. Syst.	有	in press	2010	

著者名	論文標 題			
Iwano, M.	Fine-tuning of the cytoplasmic Ca ²⁺ concentration is essential for pollen tube growth			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Plant Physiol.	有	150	2009	1322-1334

〔学会発表〕 計（6）件 うち招待講演 計（4）件

発表者名	発表標 題		
柴 博史	シロイヌナズナ種内雑種を利用した対立遺伝子間の優劣に関わるDNAメチル化機構の解析		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本農芸化学会2010年度大会	2010年3月27-30日	駒場（東京）	

発表者名	発表標 題		
柴 博史	アブラナの自他認識におけるDNAメチル化の役割		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第18回農芸化学Frontiersシンポジウム	2010年3月26-27日	千葉市	

発表者名	発表標 題		
柴 博史	2種のシロイヌナズナエコタイプ間のメチローム・トランスクリプトーム比較解析		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第51回日本植物生理学会	2010年3月18-21日	熊本市	

発表者名	発表標 題		
Shiba, H.	Genome-wide analyses of allele-specific expression and DNA methylationin <i>Arabidopsis</i> species		
学会等名	発表年月日	発表場所	
Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology "RNA Silencing Mechanisms in Plants"	2010年2月21-26日	Santa Fe, NM, USA	

発表者名	発表標 題		
柴 博史	アブラナ科の自他認識機構 ～DNAメチル化の役割～		
学会等名	発表年月日	発表場所	
(財) バイオインダストリー協会「未来へのバイオ技術」勉強会 月例会-植物エピジェネティクスの応用を展望する	2009年10月29日	東京	

発表者名	発表標題		
柴博史	S対立遺伝子の発現制御機構の解析からメンデルの優性の法則に迫る		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第73回日本植物学会シンポジウム「高等植物の生殖および初期発生研究の最前線」	2009年9月19日	山形市	

〔図書〕 計（ 0 ）件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	
	■ ■ ■		

12. 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

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--