

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15117

研究課題名（和文）データ駆動型アプローチによる植物の上下軸形成機構の解明

研究課題名（英文）Analysis of the mechanism for apical-basal axis formation in plants by data-driven strategy

研究代表者

木全 祐資（Kimata, Yusuke）

東北大学・生命科学研究科・助教

研究者番号：10893307

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：受精卵の不等分裂は植物の上下軸形成に必須であるが詳細な分子機構は不明である。そこで我々は、分裂後の受精卵を顕微鏡下で単離しRNA-seq解析することに成功した。受精後の転写が異常な変異体でも実施して野生型と比較したところ、変異体では200程度の遺伝子の発現量が低下していることを突き止めた。変異体で発現低下した遺伝子のうち、不等分裂に関わる可能性が高いと考えられるものを選別し、遺伝子破壊株の表現型を観察したところ、いくつかの欠損株では受精卵の不等分裂が損なわれた。今後はこれらの遺伝子の具体的な機能について、ライブイメージング解析で調べることで、不等分裂の分子機構の解明につながると期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

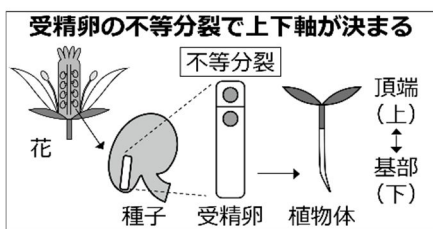
植物の体軸形成過程では、受精後にどのような遺伝子が働いて受精卵を不等分裂させるのかがほとんど不明であった。我々はトランスクリプトーム解析に基づく逆遺伝学的な解析から、植物受精卵の不等分裂を担う実働因子の候補を同定することに成功した。今後、これらの遺伝子の具体的な機能を解明することで、植物全体に共通した形作りの制御機構の理解や、胚発生の人為的な制御も可能になると期待できる。

研究成果の概要（英文）：Asymmetric division of the zygote is essential for the axis formation in plants but the molecular mechanism is unknown. In this study, we successfully isolated zygotes and obtained RNA-seq data. We found a down-regulation of about 200 genes in the mutants. Among the genes whose expression was reduced in the mutants, we obtained T-DNA lines of genes considered to be involved in asymmetric division and observed the phenotypes of them were observed, and in some of them, asymmetric division of zygotes was impaired. In the future, the specific functions of these genes will be investigated by live imaging, which is expected to aid elucidation of the molecular mechanism of asymmetric division.

研究分野：植物発生学

キーワード：細胞極性 胚発生 トランスクリプトーム ライブイメージング シロイヌナズナ

1. 研究開始当初の背景



胚発生の過程では、単一細胞である受精卵から、多細胞からなる複雑な構造の基礎が生まれる。ほとんどの植物種では、はじめに受精卵の不等分裂によって確立される頂端-基部軸(上下軸)が、その後の全ての器官形成の土台となる。したがって、受精卵の不等分裂こそが体軸形成の基盤になる過程である。しかし、被子植物の受精卵は種子組織に包まれているので、その過程をリアルタイムに観察する

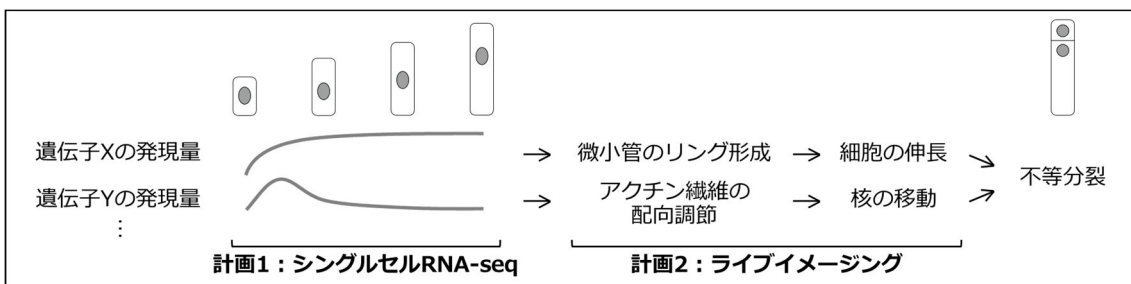
のが困難であり、受精卵の内部で何がどうなって不等分裂に至るのかは全く明らかにならなかった。

2. 研究の目的

本研究は、受精卵の不等分裂を担う実働因子を同定し、上下軸の形成過程における遺伝子発現の網羅的な時系列、およびその下流で制御される細胞内の動態を一貫して理解することを目的とした。これらを達成することで、「受精後からどんな因子が・いつ・何を・どのように制御することで不等分裂に至るか」という、体軸形成の初期過程の全体像を明らかにできる。

3. 研究の方法

まず、代表者らが独自に確率した受精卵の単離法によって、分裂直後の受精卵を 20 個回収した。さらに、受精後の転写が損なわれたせいで不等分裂に失敗する変異体の受精卵も同様に回収し、RNA-seq データを取得した。データをもとに候補因子を選抜し、遺伝子破壊株の表現型を調べることで、不等分裂の制御因子を探索した。さらに、それらの細胞内での機能を知るべく、ライブイメージングによる局在解析を行った。



4. 研究成果

野生型と受精後の転写が異常な変異体の遺伝子発現を比較したところ、変異体では 200 程度の遺伝子の発現量が低下することがわかった。このうち、他グループの先行研究から受精後に発現上昇することがわかっているもの、かつ既知の遺伝子機能から不等分裂に関与する可能性が高いと考えられたものを選抜した。

これらの候補遺伝子について、実際に不等分裂を制御するかを確かめるべく、ストックセンターから T-DNA 挿入株を入手して表現型を観察した。その結果、微管結合タンパク質をコードすることが知られている遺伝子など、いくつかの遺伝子の破壊株で受精卵の不等分裂が損なわれることを突き止めた。

また、候補遺伝子の具体的な機能を明らかにするために、蛍光タンパク質を融合したマーカー株を作出し、受精卵内部での局在を確認したところ、上記の微管結合タンパク質が実際に受精卵で繊維状に局在している様子が認められた。(以上、未発表)

今後はこれらの遺伝子の破壊株での細胞骨格やオルガネラの動態を調べるなど、詳細な遺伝子機能を探ることで、受精卵の不等分裂を制御する精密な分子機構に迫ることができると期待される。

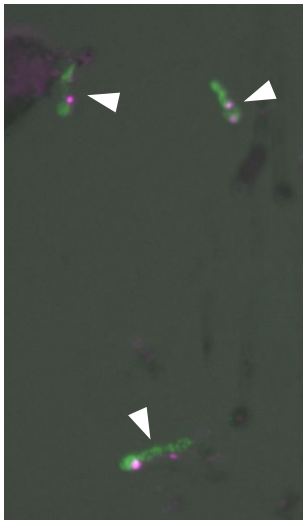


図 1 顕微鏡下で単離された受精卵

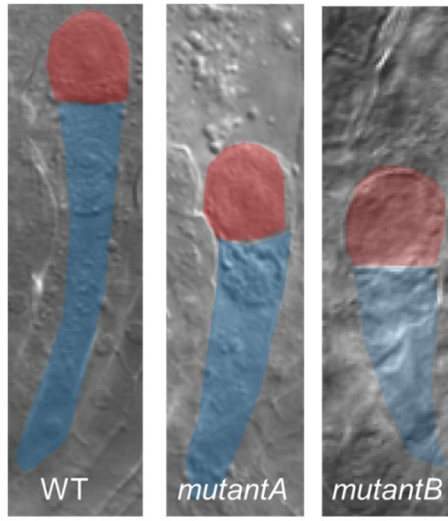


図 2 受精卵の不等分裂が損なわれる変異株の例

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Matsumoto Hikari, Kimata Yusuke, Higaki Takumi, Higashiyama Tetsuya, Ueda Minako	4. 巻 62
2. 論文標題 Dynamic Rearrangement and Directional Migration of Tubular Vacuoles are Required for the Asymmetric Division of the Arabidopsis Zygote	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1280 ~ 1289
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcab075	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木全祐資, 白石尚也, 中村聡汰, 鈴木孝征, 水谷未耶, 東山哲也, 植田美那子
2. 発表標題 細胞内動態に注目した受精卵の非対称分裂の制御機構の解析
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松本光梨, 木全祐資, 檜垣匠, 東山哲也, 植田美那子
2. 発表標題 ライブイメージング解析によるシロイヌナズナ受精卵の極性化過程の解明
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 植田美那子, 小松大鳳, 田中小百合, 檜垣匠, 松本光梨, 木全祐資, 鎌本直也, 藤本 仰一, 東山哲也
2. 発表標題 受精卵と初期胚における周期と変調から解き明かす植物の体軸形成機構
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木全祐資、白石尚也、中村聡汰、安野夏彦、鈴木孝征、水谷未耶、東山哲也、植田美那子
2. 発表標題 細胞内動態に注目した受精卵の非対称分裂の制御機構の解析
3. 学会等名 日本植物学会第86回大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------