

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 30 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24770045

研究課題名(和文)大規模発現解析とレーザー操作で迫る植物受精卵の体軸獲得機構

研究課題名(英文)Transcriptome analysis and laser manipulation for plant axis formation

研究代表者

植田 美那子 (Minako, Ueda)

名古屋大学・理学研究科(WPI)・講師

研究者番号：20598726

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：被子植物であるシロイヌナズナにおいて、受精卵の極性化と初期胚の体軸形成を担う転写因子の下流で働く因子群を探索した。次世代シーケンサーを用いた遺伝子発現プロファイリングにより、野生型と変異体の受精卵で発現する遺伝子を網羅的に比較した結果、27の候補遺伝子を得た。これらは、主要な植物ホルモンの輸送や特異的なオルガネラ構造変化に関与すると推定される遺伝子など、多岐にわたっていた。これらの欠損株をストックセンターより入手し、表現型を解析したところ、うちいくつかについて、単一または多重変異体において胚の形態や生存率が異常になることを見出した。

研究成果の概要(英文)：We screened the downstream candidates of a specific transcription factor, which regulates the polarization of the zygote and the axis formation of the early embryo in a model plant, Arabidopsis. Based on the transcriptome analysis using next generation sequence, we identified 27 candidates, including various factors, such as the putative regulator for the organelle structure or for the transport of a major plant hormone. We analyzed the mutants of these genes, and found that several lines are defective in embryo morphology and are embryo lethal in single or multiple mutants.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：植物発生 転写因子 体軸形成

1. 研究開始当初の背景

多細胞生物は複雑な構造をもつが、それらは全て受精卵という単一細胞に由来する。植物の卵細胞と受精卵では一般的に、核が頂端側に、液胞が基部側に偏るといった、頂端 - 基部軸に沿った細胞内極性が観察される。受精卵は不等分裂し、小さな頂端細胞と大きな基部細胞を生じる。頂端細胞からは植物体の地上部が、基部細胞からは地下部が形成されるので、受精卵の細胞極性は成体の頂端 - 基部軸と一致する。この顕著な形態的特徴は多くの植物に保存されており、特に、頂端 - 基部軸を生み出す受精卵の不等分裂はほとんどの多細胞植物に共通する。しかしこの重要性にもかかわらず、体軸形成のしくみは未だほとんど分かっていない。そんななか、応募者はモデル植物であるシロイヌナズナを用いた研究から、受精卵で働く特定の転写因子が受精卵の極性化と体軸形成を制御することを見出した。そこで、これを端緒とすることで、植物の発生初期に体軸が形成されるしくみについて研究することを思い立った。

2. 研究の目的

受精卵で働く転写因子が体軸形成を担うということは、何らかの遺伝子群の発現が制御されることで、体軸形成が実現すると考えられる。そこで、この転写因子を欠損した変異体の受精卵で発現が損なわれた遺伝子群を同定して解析することで、体軸形成を担う実働因子群を特定することを目指した。

後述するように、シロイヌナズナの初期胚では遺伝子発現の冗長性が高いせいで、変異体の探索に基づいた従来の遺伝学的手法では重要な制御因子が得られないと予想されている。一方、本研究では遺伝子発現量の変化に着目した手法を用いることで、これまでは得られなかった因子を得ることも目的とした。

3. 研究の方法

この転写因子の変異体から受精卵を単離し、次世代シーケンサーを用いて、トランスクリプトーム解析をおこなった。得られたデータを、野生型受精卵での発現プロファイルと比較することで、この変異体で特異的に発現量が低下した遺伝子群を探索した。次に、それぞれが欠損した変異体をストックセンターから入手して、受精卵や胚の表現型を観察することで、体軸形成への関与を判定した。また、体軸形成過程での各因子の役割を精査するべく、受精卵内部のオルガネラや初期胚の各部位を標識する株を作成した。

4. 研究成果

単離した受精卵を用いたトランスクリプトーム解析の結果、この変異体の受精卵では、27 個の遺伝子の発現量が顕著に低下していることを見出した。これらの中には、機能未知なものや代謝系の因子、オルガネラ構造変

化に関わると推定される因子や、主要な植物ホルモンの輸送を制御する因子など、さまざまなものが含まれていた。そこで、それぞれの遺伝子が欠損した突然変異体をストックセンターから入手して解析した。

シロイヌナズナの初期胚では遺伝子発現の冗長性が高いことが知られており、同一の機能を担う相同遺伝子が同時に発現することで、互いを補完し合っていると考えられている。このような遺伝子セットの場合、一つの遺伝子が欠損しただけでは表現型がないが、微弱すぎて検出されない例が知られている。そこで、このような冗長性による見逃しを回避するべく、これら候補遺伝子群だけでなく、野生型受精卵における発現量が多かった相同遺伝子群にも着目し、計 40 株の突然変異体入手した。単一変異体の全てと、順次作成した多重変異体の表現型を観察した結果、初期胚の形態異常や胚性致死を示す株が複数見出された。これらの遺伝子は、いずれも初期胚での機能が未報告のものであることから、体軸形成の新たな制御因子である可能性が考えられる。

今後の展望としては、得られた遺伝子の機能を詳細に解析することで、体軸形成に果たす役割を明らかにすることが第一である。この際、受精卵や初期胚における体軸形成の段階を詳細に判定するためのマーカーとして、受精卵や初期胚の頂端側・基部側のそれぞれを二色の蛍光タンパク質（赤色蛍光タンパク質 RFP と緑色蛍光タンパク質 GFP）で標識した株を既に作成したので、これを用いることで、各遺伝子が働く時期や部位を精査できると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

1. Maruyama D, Völz R, Takeuchi H, Mori T, Igawa T, Kurihara D, Kawashima T, Ueda M, Ito M, Umeda M, Nishikawa S, Groß-Hardt R, Higashiyama T.

Rapid elimination of the persistent synergid through a cell-fusion for polytubey block.

Cell. 2015 161(4):907-18. 査読あり

doi: 10.1016/j.cell.2015.03.018.

2. Yamaguchi, E., Wang, C., Fukazawa, A., Taki, M., Sato, Y., Sasaki, T., Ueda, M., Sasaki, N., Higashiyama, T. and Yamaguchi, S.

A benzophosphole oxide with an electron-donating substituent as an environment-sensitive fluorescent probe. *Angewandte Chemie International Edition*. 2015 4(15):4539-43. 査読あり

doi: 10.1002/anie.201500229.

3. Yin, K., Ueda, M., Takagi, H., Kajihara, T., Sugamata Aki, S., Nobusawa, T., Umeda-Hara, C. and Umeda, M.
(Yin, K.とUeda, M.は共同第一著者である)
A dual-color marker system for in vivo visualization of cell cycle progression in Arabidopsis.
Plant Journal. 2014 80(3):541-52. 査読あり
doi: 10.1111/tpj.12652.

4. Okamoto-Yoshiyama, K., Kobayashi, J., Ueda, M., Kimura, S., Maki, H. and Umeda, M.
ATM-mediated phosphorylation of SOG1 is essential for the DNA damage response in Arabidopsis.
EMBO Reports. 2013 14(9):817-22. 査読あり
doi: 10.1038/embor.2013.112.

5. Ueda, M. and Laux, T.
The origin of the plant body axis.
Current Opinion in Plant Biology. 2012 15(6):578-8. 査読なし
doi: 10.1016/j.pbi.2012.08.001.

6. 植田美那子
シロイヌナズナの頂端-基部軸形成を担う WRKY2-WOX8 転写因子カスケード.
Plant Morphology. 2012 24, 89-96. 査読なし
ホームページ:
https://www.jstage.jst.go.jp/article/plmorphol/24/1/24_89/_article/-char/ja/

〔学会発表〕(計 10 件)

1. シロイヌナズナの受精卵極性と初期胚パターンの制御機構
植田美那子, 木全祐資, 栗原大輔, 東山哲也
第 56 回日本植物生理学会年会
2015 年 3 月 16-18 日
日本・東京・東京農業大学

2. Molecular dynamics of plant axis formation
Minako Ueda, Yusuke Kimata, Daisuke Kurihara, Tetsuya Higashiyama
The 1st CSRS-ITbM Joint Workshop
2015 年 1 月 7 日
日本・愛知・名古屋大学

3. Transcriptional network underlying the apical-basal axis formation in plant embryos
Minako Ueda, Tetsuya Higashiyama
The 38th Naito Conference
2014 年 10 月 8 日

日本・北海道・シャトレーゼ ガトーキングダム サッポロ

4. シロイヌナズナ受精卵における細胞極性化過程のライブイメージング
植田美那子, 木全祐資, 栗原大輔, 東山哲也
第 3 回エンドメンブレンミーティングプログラム
2014 年 9 月 29 日-30 日
日本・愛知・名古屋大学

5. シロイヌナズナの受精卵極性とパターン形成の制御機構
植田美那子, 木全祐資, 東山哲也
日本植物学会第 78 回大会
2014 年 9 月 12 日-14 日
日本・東京・明治大学

6. シロイヌナズナ初期胚における細胞運命決定機構の解析
栗原大輔, 牛王啓太, 有賀花奈, 植田美那子, 東山哲也
日本植物学会第 78 回大会
2014 年 9 月 12 日-14 日
日本・東京・明治大学

7. シロイヌナズナの胚発生制御因子の同定に向けた化合物スクリーニング
木全祐資, 佐藤綾人, 東山哲也, 植田美那子
日本植物形態学会第 26 回総会
2014 年 9 月 11 日
日本・東京・明治大学

8. Molecular dynamics of plant axis formation
Minako Ueda, Yusuke Kimata, Tetsuya Higashiyama
International ERATO Higashiyama Live-Holonics Symposium 2014
2014 年 9 月 9 日-10 日
日本・愛知・名古屋大学

9. シロイヌナズナの受精卵極性と体軸形成の制御機構
植田美那子, 東山哲也, 梅田正明
日本植物学会
2013 年 9 月 13 日
日本・北海道・北海道大学

10. シロイヌナズナの受精卵極性と体軸形成の制御機構
植田美那子, 東山哲也, 梅田正明
日本植物形態学会 2013 年 9 月 12 日
日本・北海道・北海道大学

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

トランスフォーマティブ生命分子研究所ホームページ

<http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/index-ja.php>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植田 美那子 (UEDA, Minako)

名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・特任講師

研究者番号：20598726

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし