

平成22年4月23日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2012

課題番号：19060016

研究課題名（和文） メリステムにおける遺伝子産物の発現と細胞内動態の高感度解析

研究課題名（英文） High-throughput gene expression analysis and high-resolution analysis of protein distribution in meristems

研究代表者

荒木 崇 (ARAKI TAKASHI)

京都大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：00273433

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物生理・分子

キーワード：植物，生体分子，網羅的遺伝子解析，分子間相互作用，イメージング，マイクロアレイ，タイリングアレイ，ジーンチップ

1. 研究計画の概要

植物の発生研究は、代表的な発生過程や形態形成に関わる多くの遺伝子が単離されるとともに、遺伝子発現の網羅的解析も進められている。また、多数の低分子 RNA の関与が明らかになるとともに、DNA メチル化などによるエピジェネティックな制御が、植物固有の様式で重要な役割を果たすことが示されている。今後の研究においては、(1) ゲノム全体にわたって遺伝情報・エピジェネティックな情報を取得し、メリステム形成・維持における役割を解析すること、また、(2) 個々の遺伝子の機能解析においても、それぞれがコードするタンパク質の組織・細胞内における機能を動的に解析すること、が必要不可欠であると考えられる。

そこで、本支援研究においては、シロイヌナズナのタイリングアレイを利用して、低分子 RNA の発現、および chip-on-chip によるゲノムの化学修飾を網羅的に解析する方法を確立し、この技術を計画研究・公募研究の班員に提供することを目的とする。これにより、ゲノム発現データの蓄積されることを目指す。また、タンパク質の組織内・細胞内局在の解析の技術情報や、植物細胞内におけるタンパク質間相互作用解析のためのベクター、茎頂メリステムの細胞動態を解析するための材料などを整備し、計画研究・公募研究の班員に提供するとともに、必要な班員には設備利用の便を図ることを目的とする。先端的な研究を進める班員から広く情報を収集し、

技術交流などを通して本特定領域研究全体でそれを共有する体制を構築する。

2. 研究の進捗状況

初年度（2007年度）に班員に対する支援体制の整備をおこない、公募研究の班員が加わった二年度目（2008年度）から、支援業務を開始した。網羅的な遺伝子発現解析に関しては、2008年4月からこれまでに、のべ16研究室からの要請でシロイヌナズナ DNA チップ、ヒヤクニチソウ DNA チップ、シロイヌナズナタイリングアレイを用いた解析を計47件おこなった。また、BiFC (split YFP) 法による植物細胞内におけるタンパク質間相互作用解析のためのベクター・セットを2009年1月からこれまでに、要請があった7研究室に提供し、蛍光タンパク質の細胞内局在のイメージングに関する共焦点レーザー走査顕微鏡を用いた技術支援を1研究室のべ3件おこなった。これらにより、植物の特殊な発生過程で働く新規遺伝子の発見、ペプチドと植物ホルモンのシグナル伝達のクロストーク、種々の制御タンパク質間の植物細胞内における分子間相互作用の実証など、植物メリステム研究に寄与する多くの成果が挙げられている。

支援事業の一環として、2008年11月と2009年11月には、連携研究者（奈良先端大・島本 功教授）がオーガナイザーとなり、テクニカル・ワークショップ「視る生物学3」および「視る生物学4」（奈良先端大植物支

援事業との共催)をおこない、班員を含む多くの参加者を得て、先端的なイメージング技術の紹介と交流を図った。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。網羅的な遺伝子発現解析の支援は多くの班員が利用し、研究成果が論文公表というかたちで結実してきている。植物細胞内におけるタンパク質間相互作用解析やイメージングに関する技術支援は、件数はまだ少ないものの、利用は広がりつつあり、研究成果に結びつきつつある。研究期間後半の支援体制と内容の方向性が明確にできたと考える。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 網羅的な遺伝子発現解析の支援に関しては、現状の支援体制を維持して、要請に応じた支援を継続する。(2) 植物細胞内におけるタンパク質間相互作用解析やイメージングに関する技術支援は、ベクター等の材料の配布に加え、要請のあった班員の研究室から実験者を派遣してもらい、技術サポート込みで機器の使用の便を図る形の支援をおこなう。(3) 新規技術の探索を進める。(4) イメージング関係のテクニカルワークショップの共催は継続し、先端的なイメージング技術の紹介をおこなう。

5. 代表的な研究成果

(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 12 件)

Notaguchi, M., Daimon, Y., Abe, M., and Araki, T. (2009) Adaptation of a seedling micro-grafting technique to the study of long-distance signaling in flowering of *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Plant Research** **122**, 201-214.

Motose, H., Iwamoto, K., Endo, S., Demura, T., Sakagami, Y., Matsubayashi, Y., Moore, K. L. and Fukuda, H. (2009) Involvement of phyto-sulfokine in the attenuation of stress response during the transdifferentiation of *Zinnia mesophyll* cells into tracheary elements. **Plant Physiology** **150**, 437-447.

Yoshida, S., Iwamoto, K., Demura, T. and Fukuda, H. (2009) Comprehensive analysis of the regulatory roles of auxin in early transdifferentiation into xylem cells. **Plant Molecular Biology** **70**, 457-469.

Endo, S., Pesquet, E., Yamaguchi, M., Tashiro, G., Sato, M., Toyooka, K., Nishikubo, N., Motose-U., M., Kubo, M., Fukuda, H. and Demura, T. (2009) Identifying new components participating in the secondary cell wall formation of vessel elements in *Zinnia* and *Arabidopsis*. **Plant Cell** **21**, 3152-3169.

Notaguchi, M., Abe, M., Kimura, T., Daimon, Y., Kobayashi, T., Yamaguchi, A., Tomita, Y., Dohi, K., Mori, M., and Araki, T. (2008) Long-distance, graft-transmissible action of *Arabidopsis* FLOWERING LOCUS T protein to promote flowering. **Plant & Cell Physiology** **49**, 1645-1658.

Pyo, H., Demura, T., and Fukuda, H. (2007) TERE; a novel cis-element responsible for a coordinated expression of genes related to programmed cell death and secondary wall formation during tracheary element differentiation. **Plant Journal** **51**, 955-965.

大門靖史, 荒木 崇 (2007) 生命現象はどこまで視覚化できるか (4) BiFC (Bimolecular Fluorescence Complementation) 法. **化学と生物** **45**, 718-725.

[学会発表] (計 7 件)

貴船永津子, 岩本訓知, 十時 泰, 豊田 敦, 持田恵一, 出村 拓, 福田裕徳
管状要素分化転換過程における遺伝子発現に対する DNA メチル化・ヒストン脱アセチル化阻害の影響. 第 49 回日本植物生理学会年会 (2008.3.20-22, 札幌市・札幌コンベンションセンター)

丹羽優喜, 大門靖史, 荒木 崇
シロイヌナズナ FT と相互作用する新規因子 TCP 蛋白質の同定. 日本植物学会 第 72 回大会 (2008.9.25-27, 高知市・高知大学)

大門靖史・荒木 崇
BiFC 法を用いた植物細胞内における蛋白質間相互作用の可視化と細胞内局在の数値化への試み. 第一回「光塾」(光イメージング若手の会) (2009.8.15-16, 神戸市・情報通信研究機構 神戸研究所 未来 ICT 研究センター)

[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]