

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：37601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23380009

研究課題名(和文) ギニアグラスを用いたアポスポリー性胚嚢始原生殖細胞出現メカニズムの分子的解析

研究課題名(英文) Molecular analysis of appearing mechanism of aposporous embryo sac initial cell in *Panicum maximum*

研究代表者

陳 蘭庄 (Chen, Lanzhuang)

南九州大学・環境園芸学部・教授

研究者番号：40284822

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円

研究成果の概要(和文)：卵細胞が受精せず胚を形成するアポミクシス現象(クローン植物)を一代雑種の固定などに利用できれば、「緑の革命」以上の経済効果が期待されるため、本研究では、イネ科のギニアグラスからすでに得ているアポスポリー性胚嚢始原生殖細胞(AIC)出現時期に特異的発現する遺伝子(ASG-1)の機能解析を行った。その結果、AICを単離しその存在を証明したうえ、モデル植物のシロイヌナズナ組換え植物でアポミクシス現象が再現されたことから、ASG-1がアポミクシス現象を直接制御すると証明できた。これらの結果を通じて、アポミクシスの持つ機能をさらに強化・発揮し、ひいては人類の食糧問題に貢献できると考えている。

研究成果の概要(英文)：For the molecular analysis of appearing mechanism of aposporous embryo sac initial cell (AIC) in apomictic guinea grass in this study, 1) the AIC was isolated after ovaries treated with enzyme solution and by this its existence was proofed; 2) the apomixis specific gene (ASG-1) isolated from apomict of guinea grass (showing multiple embryo sac formation (MES)) was used for plasmid construction of hsp::ASG-1::GFP to produce transformants of Arabidopsis. In T4&#8764;T5 generations, 1) GFP expression was observed in each organism; 2) in experiments of either rapid or long time drought treatment, the plants showed drought resistance comparing to the non-transformants; 3) the following phenomena in the same ovule were observed in part of the plants (20%): a) MES formation; b) multiple embryogenesis (ME) (one embryo and the embryoid initiated from micropylar end); c) ME (one embryo from micropylar end, and the embryoid from the chalazal end).

研究分野：遺伝育種学

キーワード：アポミクシス 胚嚢始原生殖細胞 ASG-1遺伝子の機能解析 ギニアグラス シロイヌナズナ イネ組換え植物 多胚嚢形成現象 多胚形成現象

### 1. 研究開始当初の背景

世界人口は2010年にもうすでに70億人を突破しました。50年に92億人を超える見通しで、92億人を養うためには、食糧生産を00年に比べて1.55倍にする必要があると予測されています。

一方、都市化で作付面積が減少し続いています。

このように人口増加と作付面積の減少というダブルパンチを受けて、人類は食糧危機をリアルに直面しています。

他方、農業科学者たちはそれを正面から受け止めて、増収増産の一代雑種の作出や、優良品種の育成など、懸命に食糧危機の回避に努力しています。

そこで、孫悟空に金の棒を、という素晴らしい武器を農業上で発見しました。それはアポミクシス(クローン植物)です。

植物のアポミクシス(無配偶生殖)は、卵細胞が受精を経ず、種子胚を形成するユニークな生殖様式である。この形質を実用化できれば、一代雑種の固定や栄養繁殖性植物の種子繁殖性植物への転換が可能となるなど、「緑の革命」以上の経済効果が期待される。

本研究はこのアポミクシスについて、植物での発現機構への理解を深めることを目的としています。

私たちはこれまでに、イネ科暖地型牧草のギニアグラスを用いてアポミクシス性生殖様式の解明、アポミクシス性特異的遺伝子の*ASG-1*(1~5)の同定、*ASG-1*の組織内での局在解析、組換えイネの作出、生殖細胞の単離の試みなど、アポミクシス研究を体系的に行ってきた。

### 2. 研究の目的

この研究はモデル植物のシロイヌナズナに*ASG-1*遺伝子を導入して組換え植物の作出およびその生殖様式の究明を行うことが初めての例です。

また、様々な環境条件下で、アポミクシス現象の発現機構の分子的解析を行い、*ASG-1*遺伝子の機能を明らかにすることを目的としています。

さらにギニアグラスのアポミクシス性胚嚢始原生殖細胞(AIC)の単離および操作プロトコルを確立し、シングルセルに遺伝子導入への道を開くことを目指しています。

### 3. 研究の方法

本研究では、*ASG-1*遺伝子をモデル植物のシロイヌナズナに導入して、組換え植物体でのAICの出現現象およびAIC由来の胚嚢形成過程、さらにその胚嚢での胚形成過程を中心に解析することを通じてAICの出現メカニズムを明らかにしてきています。また、AICのシングルセルの単離および人工的に操作過程を確立させ、シングルセルに遺伝子導入可能なモデルへの発展に繋げていきます。さらに*ASG-1*遺伝子組換えシロイヌナズナにおい

て、これまでに相同性を示した他の遺伝子で示された特性を検証します。これを通じて*ASG-1*遺伝子の新たな機能を明らかにします。

### 4. 研究成果(年度ごとに)

I. 有性生殖ギニアグラス系統からの細胞の単離：N68/96-8-o-5を用いて大孢子母細胞、2分子、4分子、大孢子、大孢子由来の胚嚢生殖細胞である卵細胞、助細胞、中央細胞、反則細胞、大孢子母細胞周囲の珠心組織の体細胞を、酵素処理によって単離でき、細胞単離のスタンダードを確立できた。

アポミクシス性ギニアグラス系統からの細胞の単離：N68/96-8-o-11を用いて大孢子母細胞周囲の珠心組織の体細胞、細胞サイズが大きくなる前のAIC前駆細胞、AIC、AIC由来の2核と4核胚嚢、およびAIC由来の成熟した胚嚢の生殖細胞である卵細胞、助細胞、中央細胞を、酵素処理によって単離できた。これによって次に行うシングルセルの分取や遺伝子発現実験のために突破口を開いた。

発現遺伝子用ベクターの構築：イネの全身組織で発現するベクターを使ってhsp::*ASG1*::GFPの構築を完成した。アグロバクテリウムにも入れたので、一過性発現用遺伝子組換え系の準備ができた。

シロイヌナズナを用いた*ASG-1*遺伝子の機能解析：モデル植物のシロイヌナズナを用いて、研究室に既存の*ASG-1*が入っているベクターを使って、*ASG-1*を遺伝子導入して組換えシロイヌナズナ植物体を得た。組換え植物はT0世代からT2世代まで繁殖している。また、*ASG-1*の検出は*ASG-1*の塩基配列に基づいて作成したプライマーを用いたPCR手法による解析では、*ASG-1*の存在が確認できた。いま、サザンなどの手法による検定を実施中。

得られた組換えシロイヌナズナ植物には、様々な変異体が見られた。それらの遺伝子発現を明らかにするため、まず、それぞれの変異体の蕾や小花をサンプリングしてPFA50前処理液に入れ、さらに70%のアルコールに置換して冷蔵庫に保存中。今年はノマルスキー微分干渉顕微鏡を購入したので早速組み換え変異体の生殖様式を明らかにしたい。

II. アポミクシス性ギニアグラス系統から単離されたシングルセルの操作：アポミクシス性系統のN68/96-8-o-11を用いて大孢子母細胞周囲の珠心組織の体細胞、ターゲットのアポスポリー性胚嚢始原生殖細胞(AIC)を含む細胞の単離技術を確立したうえ、よりシングルでかつターゲットの細胞を容易に捕まえるような技術を確立するため、超微量電子スポットであるピコピペットを用いて目標となる単離されたシングルセルのプロトプラストを操ることに成功した。これによって次に行うシングルセルを用いた一過性発現、AIC細胞の培養および*ASG-1*遺伝子の機能解析実験のために突破口を開いた。

発現遺伝子用ベクターの構築：RNA干渉法

を用いて *ASG-1* 遺伝子の機能解析を行うため、RNAi コンストラクト用ベクター (ユビキチンプロモーター、奈良先端技術大学院大学の島本功研究室より譲渡) と RNAi コンストラクト用ベクター (35S プロモーター、Department of Plant Systems Biology, University of Gent より譲渡) をそれぞれ構築できた。次にそれらを用いてアポミクシス性ギニアグラスへの遺伝子導入実験を行う予定。

シロイヌナズナを用いた *ASG-1* 遺伝子の機能解析：構築された hsp::*ASG1*::GFP のプラスミドを使って、Floral dip 法による組換え体を作成し、得られた T2 と T3 世代を用いて形態調査を行った。その中で、シロイヌナズナから単離された RD22 と 40~50% で似ていると推定される *ASG-1* 遺伝子の機能の 1 つである耐乾燥性個体が得られた。いま、その検証実験を実施中。

ノマルスキー微分干渉顕微鏡を用いた胚嚢分析法によるアラビドプシスの観察については、まず、非組換え体の大胞子の出現から、胚嚢形成までの過程を明らかにした。いま、組換え体を観察中。

III. 1、アポミクシス性ギニアグラスを用いたアポスポリー性胚嚢始原生殖細胞の単離と解析：1) 蕾及び子房の大きさと子房の色は子房の成熟期間と正比例関係にあることが分かった。よって子房の色で子房の発育時期を推定できる。2) 酵素液に浸した子房を様々な前処理を施すことによって、シングルセルプロトプラストの効率的な単離が可能となった。3) さらに単離されたシングルセルプロトプラストは、超微量電子スポイトピコピペットを使って回収することができる。

2、*ASG-1* を用いた遺伝子組換えシロイヌナズナの機能解析—耐乾燥性実験：1) 急激な乾燥実験では、T3 世代においては、6 時間の乾燥後もダメージがほとんど見られず、再吸水後 1 日で完全に復活した。それに対して対象区では、6 時間後にごく一部で緑化が見られたものの、全体的にダメージが大きく 2 日後には白化し枯死した植物が多く見られた。2) 長期的な乾燥実験では、14 日間断水を行っても通常の生育を保ち、生存個体数による生存率が最も高かった。これらの結果から *ASG-1* 遺伝子導入されたシロイヌナズナは乾燥耐性の効果があると推定された。

3、*ASG-1* を用いた遺伝子組換えシロイヌナズナの機能解析—胚嚢分析：ノマルスキー微分干渉顕微鏡を用いて蕾や小花を使って胚嚢分析を行った。組換えシロイヌナズナでは、一部ではあるが、次の 3 種類の胚発育パターンが見られた。(1) 多胚嚢胚珠形成：同じ胚珠に 2 つの胚嚢が珠孔側から出現して胚嚢中の胚が正常に生育している。(2) 胚嚢の珠孔側からの多胚形成：1 つの正常な胚のすぐそばに胚様体胚がもう 1 つある。(3) 馬蹄状の胚嚢の両方から 1 つずつの胚が形成

される。これらの結果から、*ASG-1* はアポミクシス現象に深く関わっていると考えられる。

IV. 1、イネ科植物への *ASG-1* 遺伝子導入：hsp::*ASG-1*::GFP 遺伝子を導入したイネでは、シロイヌナズナで見られたような変異は見られなかった。*ASG-1* の遺伝子配列をもとに作成した特異的なプライマーを用いた PCR による解析では、*ASG-1* 遺伝子の特異的なバンドが検出された。また、ヒートショックによる蛍光発現も認められた。

2、*ASG-1* 遺伝子組換えシロイヌナズナでの多胚形成と多胚嚢形成現象の解析：1) 組換え体では、(1) 多胚嚢形成：1 胚珠に 2 胚嚢が同時に珠孔側から出現したが、胚嚢には胚乳はほとんどない。(2) 多胚形成 (珠孔側)：胚も胚柄も正常に発育するが、胚乳があまりない。一方、(3) 多胚形成：1 つの正常の胚が珠孔側から発達したが、合点側に胚様体が 1 つ以上に発達してくる。以上の結果から *ASG-1* が直接に多胚嚢形成や多胚様体形成に深く関連していると分かった。

3、組換えシロイヌナズナでの *ASG-1* 遺伝子の時空的発現：*ASG-1* の導入によって上記の 3 つの表現型の由来を追跡調査するため、ヒートショック処理を時間ごとに行った植物体を用いてその生殖様式の観察を行った結果：1) これまで報告した 3 つの表現型が認められた。2) ヒートショック処理時期の影響については、非組換えには影響しないことと、ヒートショック処理時期に関係なく、組換え体には 3 つの表現型は認められたが、その出現頻度やタイプへの影響についての実験は継続中。

4、ギニアグラスの種子を用いた *ASG-1* 遺伝子組換え体作出へのアプローチ：エレクトロポレーションによる形質転換では、種子およびカルスでそれぞれ GUS 発現が認められた。アグロバクテリウム法による *ASG-1* の導入には、抗生物質入り培地上で共存培養 3 時間および 3 日間のもので幼葉および根が伸長しているものも多く見られた。

卵細胞が受精せず胚を形成するアポミクシス現象 (クローン植物) を一代雑種の固定などに利用できれば、「緑の革命」以上の経済効果が期待されるため、本研究では、イネ科のギニアグラスからすでに得ているアポスポリー性胚嚢始原生殖細胞 (AIC) 出現時期に特異的発現する遺伝子 (*ASG-1*) を用いて AIC 出現の分子的解析を行った結果、AIC を単離しその存在を証明したうえ、モデル植物のシロイヌナズナ組換え植物でアポミクシス現象が再現されたことから、*ASG-1* がアポミクシス現象を直接制御すると証明できた。これらの結果を通じて、これまでになく研究手法でアポミクシスの持つ機能をさらに強化・発揮し、ひいては人類の食糧問題、バイオエネルギーに貢献できると考えています。

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 15 件)

- (1) Nishimura Y, Du ZS, Ishii S, Tanaka Y, Chen LZ. Approach to establishment of plant regeneration and transformation protocol by culture of leaf segments and stalks in 'Koganesengan' of Shochu usage. **Bull. Minami Kyushu U.** 41:75-83, 2011
- (2) Tanaka Y, Kumamoto K, Nishimura Y, Tominaga H, Chen LZ. Approach to regeneration and new cultivar breeding of 'Itomaki-Daikon' of Miyazaki origin vegetable using line selection method. **Bull. Minami Kyushu U.** 41:37-42, 2011
- (3) Chen LZ, Ishii S, Tanaka Y, Nishimura Y, Tominaga H. Variety detection of Miyazaki conventional vegetable of 'Sadowara' eggplant using RAPD-PCR method. **Bull. Minami Kyushu U.** 41:51-55, 2012
- (4) Chen LZ, Xu C, Du Z, Hamaguchi T, Sugita T, Ichikawa H, Guan LM. Establishment of *Agrobacterium* Mediated Transformation System in Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) by Culture of Leaf Segments for Functional Analysis of *ASG-1*, an Apomixis-Specific Gene. **British Biotechnology Journal** 3(4): 458-470, 2013
- (5) Nishimura Y, Tetsumura T, Hamaguchi T, Sugita T, Ichikawa H, Yoshida K, Xu C, Chen LZ. Functional analysis of apomixis specific gene: Plant regeneration of transformed *Arabidopsis* with *ASG-1* gene using floral dip method. **Bull. Minami Kyushu U.** 43:33-39, 2013
- (6) Gotou S, Hodouchi Y, Matsushita E, Tanaka Y, Nishimura Y, Ishii S, Chen LZ. Studies on the interspecific hybridization for the breeding of Hyuga-squash, a Miyazaki origin vegetable. **Bull. Minami Kyushu U.** 43:61-65, 2013
- (7) Chen LZ, Nishimura Y, Tetsumura T, Hamaguchi T, Sugita T, Yoshida K, Xu C. Establishment of *Agrobacterium* Mediated Transformation System in *Arabidopsis Thaliana* for Functional Analysis of *ASG-1*, an Apomixis Specific Gene, **Int. J. Curr. Biotechnol.**, 1(9):6-12, 2013
- (8) Chen LZ, Xu C, Du ZS, Hamaguchi T, Sugita T, Ichikawa H, Guan LM. Establishment of *Agrobacterium* mediated method transformation system in sweet potato (*Ipomoea batatas*) by culture of leaf segments for functional analysis of *ASG-1*, an apomixis-specific gene. **British Biotechnology Journal**, 3:458-470, 2013
- (9) Chen LZ, Chenti Xu, Zhaosheng Du, Takuro Hamaguchi, Toru Sugita, Ryutarou Nagata and Liming Guan. Establishment of an Efficient and Practical Virus-free Seedling Supply System by Means of Culture of Shoot Apexes, RT-PCR and Clonal Propagation in Sweet Potato (*Ipomoea batatas*). **British Biotechnology Journal** 4(1): 51-63, 2014
- (10) Chen LZ, Liming Guan. THE APOMIXIS-SPECIFIC PHENOMENON: APPEARANCE OF APOSPOROUS EMBRYO SAC INITIAL CELL (AIC), AIC-DERIVED EMBRYO SAC FORMATION AND EMBRYOGENESIS WITHOUT FERTILIZATION IN APOMICTIC GUINEA GRASS (*PANICUM MAXIMUM*). **International Journal of Development Research** 4(3): 403-409, March, 2014
- (11) Chen LZ, Nishimura Y, Xu CT. Molecular analysis of mechanism of aposporous embryo sac initial cell (AIC) appearance: Attempt to isolate and collect AIC using different methods in guineagrass (*Panicum maximum*). **Bull. Minami Kyushu U.** 44: 27-33, 2014
- (12) Nishimura Y, Yoshida K, Tetsumura T, Sugita T, Kurihara D, Higashiyama T, Chen LZ. The functional analysis of apomixis specific genes: Plant regeneration and its gene expression of HSP::*ASG-1*::GFP transgenic *Arabidopsis*. **Bull. Minami Kyushu U.** 44: 35-41, 2014
- (13) Chen LZ, Nishimura Y, Xu C. Establishment of efficient system for isolation and manipulation of single protoplasts containing aposporous embryo sac initial cell in guinea grass (*Panicum maximum*). **British Biotechnology Journal** 4(9): 980-989, 2014
- (14) Chen LZ, Nishimura Y, Umeki K, Zhang J, Xu C. Establishment of a simple plant regeneration system using callus from apomictic and sexual seeds of guinea grass (*Panicum maximum*). **British Biotechnology Journal** 7(4): 183-190, 2015
- (15) 西村佳子・梅木一馬・張君・徐成体・陳蘭庄 アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—ギニアグラスの完熟種子由来カルスを用いた植物体再生系

の確立一. 南九州大学研究報告  
45:9-15, 2015

[学会発表] (計 25 件)

- (1) **陳蘭庄**・西村佳子・杜召生・濱口卓郎・杉田亘 栄養繁殖系サツマイモへの *ASG-1* 遺伝子導入系の確立について。育種学研究 13(別冊 1号)p222, 2011. 3, 横浜市立大学
- (2) 西村佳子・鉄村琢哉・**陳蘭庄** アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—シロイヌナズナへの *ASG-1* 遺伝子導入の試み—。育種学研究 13(別冊 2号)p192, 2011. 9, 福井県立大学
- (3) **陳蘭庄**・西村佳子 ギニアグラスを用いたアポスポリー性胚嚢始原生殖細胞単離の試み。育種学研究 13(別冊 2号)p190, 2011. 9, 福井県立大学
- (4) 田中佑樹・熊本耕平・西村佳子・富永寛・**陳蘭庄** 宮崎県在来野菜の振興を目的とした‘糸巻きダイコン’の系統選抜による品種の育成 II. 新系統の育成とその DNA 解析。育種学研究 13(別冊 2号)p135, 2011. 9, 福井県立大学
- (5) 後藤健治・程内ゆかり・田中佑樹・西村佳子・**陳蘭庄** 種間交雑法およびRAPD-PCR法を用いた宮崎在来野菜「日向カボチャ」新品種育成への試み。育種学研究 13(別冊 2号)p136, 2011. 9, 福井県立大学
- (6) **陳蘭庄**・西村佳子 ギニアグラスを用いたアポスポリー性胚嚢始原生殖細胞単離手法の確立へのアプローチ。育種学研究 14(別冊 1号)p232, 2012. 3, 宇都宮大学
- (7) 西村佳子・鉄村琢哉・**陳蘭庄** アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—シロイヌナズナに組み込まれた *ASG-1* 遺伝子の検出—。育種学研究 14(別冊 1号)p205, 2012. 3, 宇都宮大学
- (8) **陳蘭庄**・西村佳子 アポミクシス性ギニアグラスにおける異なるサイズの子房由来プロトプラストの単離法と回収法の確立へのアプローチ。育種学研究 14(別冊 2号)p254, 2012. 9, 京都産業大学
- (9) 西村佳子・鉄村琢哉・吉田薫・杉田亘・長田龍太郎・栗原大輔・東山哲也・**陳蘭庄** アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—*hsp::ASG-1::GFP* を遺伝子導入したシロイヌナズナ組換え体の作出—。育種学研究 14(別冊 2号)p209, 2012. 9, 京都産業大学
- (10) 梅木一馬・西村佳子・鉄村琢哉・杉田亘・長田龍太郎・**陳蘭庄** アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—*ASG-1* 遺伝子を導入したシロイヌナズナ組換え体後代の形態的ならびに分子生物学的解析—。育種学研究 14(別冊 2号)p210, 2012. 9, 京都産業大学
- (11) **陳蘭庄**・西村佳子・鉄村琢哉・杉田亘・長田龍太郎・吉田薫・市川裕章 アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—胚嚢分析法によるシロイヌナズナの生殖様式の観察—。育種学研究 15(別冊 1号)p176, 2013. 3, 東京農業大学
- (12) 西村佳子・鉄村琢哉・吉田薫・杉田亘・長田龍太郎・栗原大輔・東山哲也・**陳蘭庄** アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—*ASG-1::GFP* 遺伝子組換えシロイヌナズナでの蛍光発現—。育種学研究 15(別冊 1号)p177, 2013. 3, 東京農業大学
- (13) 内藤琢仁・西村佳子・鉄村琢哉・吉田薫・杉田亘・長田龍太郎・栗原大輔・東山哲也・**陳蘭庄** アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—*ASG-1::GFP* 遺伝子組換えシロイヌナズナを用いた PCR 解析と変異体検出—。育種学研究 15(別冊 1号)p181, 2013. 3, 東京農業大学
- (14) 梅木一馬・西村佳子・**陳蘭庄** アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—ギニアグラス成熟種子由来カルスからの効率的植物体再生—。育種学研究 15(別冊 1号)p182, 2013. 3, 東京農業大学
- (15) 中畑裕太郎・下中園周亮・田中佑樹・熊本耕平・西村佳子・富永寛・**陳蘭庄** 集団選抜法およびRAPD-PCR法を用いた宮崎在来野菜「糸巻き大根」の品種改良の試み。育種学研究 15(別冊 2号), 2013. 9, 鹿児島大学
- (16) **陳蘭庄**・西村佳子・吉田薫・鉄村琢哉・杉田亘・李琳琳 アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—*ASG-1* 遺伝子組換えシロイヌナズナの生殖様式の観察—。育種学研究 15(別冊 2号), 2013. 9, 鹿児島大学
- (17) 梅木一馬・西村佳子・杉田亘・濱口卓郎・市川裕章・吉田薫・栗原大輔・東山哲也・**陳蘭庄** アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—*ASG-1* を用いた組換えギニアグラスの作出へのアプローチ—。育種学研究 15(別冊 2号), 2013. 9, 鹿児島大学
- (18) 西村佳子・鉄村琢哉・吉田薫・杉田亘・栗原大輔・東山哲也・李琳琳・**陳蘭庄** アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—*ASG-1* 遺伝子組換えシロイヌナズナでの乾燥耐性評価—。育種学研究 15(別冊 2号), 2013. 9, 鹿児島大学

- (19) 陳蘭庄・西村佳子・鉄村琢哉・吉田薫・栗原大輔・東山哲也・杉田亘 多胚嚢胚珠および多胚形成現象が *ASG-1* 遺伝子組換えシロイヌナズナで現れる。育種学研究 16 (別冊 1号), 2014. 3, 東北大学
- (20) 西村佳子・鉄村琢哉・吉田薫・栗原大輔・東山哲也・杉田亘・陳蘭庄 アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—ギニアグラスの完熟種子由来カルスを用いた *ASG-1* 組換え体作出の諸条件検討—。育種学研究 16 (別冊 1号) p182, 2014. 3, 東北大学
- (21) Chen LZ, Nishimura Y, Tetsumura T, Yoshida K, Sugita T, Kurihara D, Higashiyama T. Apomixis-like phenomenon occurred in Arabidopsis transformants of *ASG-1*, an apomixis-specific gene isolated from facultative apomictic guinea grass (*Panicum maximum*). 23th International Congress on Sexual Plant Reproduction. 2014.7.13-18, Porto, Portugal.
- (22) 陳蘭庄・西村佳子・吉田薫・鉄村琢哉・杉田亘・栗原大輔・東山哲也 アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—*ASG-1* 遺伝子組換えシロイヌナズナでの多胚嚢形成と多胚形成現象の解析—。育種学研究 16 (別冊 2号) 2014. 9, 南九州大学
- (23) 西村佳子・吉田薫・杉田亘・栗原大輔・東山哲也・陳蘭庄 アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—イネ科植物への *ASG-1* 遺伝子導入—。育種学研究 16 (別冊 2号) 2014. 9, 南九州大学
- (24) 西村佳子・吉田薫・鉄村琢哉・杉田亘・栗原大輔・東山哲也・陳蘭庄 アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—ギニアグラスの種子を用いた *ASG-1* 遺伝子組換え体作出へのアプローチ—。育種学研究 17 (別冊 1号) 2015. 3, 玉川大学
- (25) 陳蘭庄・西村佳子・吉田薫・鉄村琢哉・杉田亘・東山哲也 アポミクシス性特異的遺伝子の機能解析—組換えシロイヌナズナでの *ASG-1* 遺伝子の時空的発現—。育種学研究 17 (別冊 1号) 2015. 3, 玉川大学

[図書] (計 1 件)

- (1) Chen LZ, Guan LM. Ultrastructural mechanism of aposporous embryo sac initial cell appearance and its developmental process in gametophytic apomicts of guinea grass (*Panicum maximum*). Pp233-250. In the

Transmission Electron Microscope, edited by Khan Maaz. INTECH, 2012

[産業財産権]  
○出願状況 (計 1 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

○取得状況 (計 1 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

[その他]  
ホームページ等  
<http://www.nankyudai.ac.jp>

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者  
陳 蘭庄 (南九州大学 環境園芸学部)  
研究者番号 : 40284822

(2) 研究分担者  
吉田 薫 (東京大学 農学部)  
研究者番号 : 70183994

鉄村 琢哉 (宮崎大学 農学部)  
研究者番号 : 00227498

(3) 連携研究者  
東山 哲也 (名古屋大学 理学部)  
研究者番号 : 00313205

野々村 賢一 (国立遺伝学研究所)  
研究者番号 : 10291890

剣持 直哉 (宮崎大学 フロンティア科学実験総合センター)  
研究者番号 : 00133124