

平成23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 新学術領域研究 4. 研究期間 平成21年度～平成25年度

5. 課題番号

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|

6. 研究課題名 アブラナ科植物におけるアロ認識機構の解明

7. 研究代表者

| 研究者番号 | 研究代表者名 | 所属部局名 | 職名 |
|----------|-----------|----------|-------------------|
| 50160130 | イワノ 岩野 | メグミ 恵 | 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 |
|-------|--------|-------------|----|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

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。

被子植物の多くは、自家不和合性として知られるアロ認識機構を有し、遺伝的に異なる同種異個体と選択的に受精することで、種の遺伝的多様性を維持している。申請者は、アブラナ科植物において、このアロ認識が花粉表層のSP11リガンドと雌ずい乳頭細胞膜上のSRK/MLPK受容体複合体との相互作用を介して行われていることを明らかにしてきた。さらに最近、自家受粉時の乳頭細胞内で、Ca²⁺濃度の急激な上昇とアクチンの脱重合が起きることを明らかにした。Ca²⁺濃度の上昇とアクチンの脱重合はこれまで異なるアロ認識機構を持つとされてきたケシ科植物の自家受粉時の花粉内でも観察されており、さらに本領域代表者の澤田らにより原索動物ホヤのアロ認識にもCa²⁺の関与が見出されたことから、申請者は動植物のアロ認識に共通する機構としてCa²⁺シグナリング系の関与を提案している。そこで、本研究では特にCa²⁺シグナリング系に着目し、乳頭細胞内にSRK/MLPK受容体のリン酸化という形で伝えられた自己花粉の情報がいかにしてCa²⁺濃度の上昇を引き起こすのか、またこの上昇がいかにしてアクチンの脱重合を引き起こし、自家花粉の吸水・発芽を阻害するのか、アブラナ科植物のアロ認識機構の全貌を明らかにすることを目的とする。今年度までの研究により、自家不和合性を付与したシロイヌナズナを利用して、乳頭細胞特異的発現遺伝子群や和合・不和合受粉時特異的発現遺伝子群を同定した。また、新規の乳頭細胞Ca²⁺モニタリング系や、乳頭細胞プロトプラストによる薬理的解析系の構築に成功した。その結果、自家受粉時には、SRKとSP11との相互作用により乳頭細胞内でCa²⁺濃度上昇が引き起こされることが、Ca²⁺濃度上昇が直接自己花粉の拒絶を誘導することを示唆した。

10. キーワード

- | | | | |
|------------------------------|-------------|--------------------------|-------------|
| (1)アブラナ科植物 | (2) 自家不和合性 | (3) Arabidopsis thaliana | (4)カルシウムイオン |
| (5) Ca ²⁺ シグナリング系 | (6) プロトプラスト | (7) | (8) |

11. 現在までの達成度

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。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。
 <区分>①当初の計画以上に進展している。 ②おおむね順調に進展している。 ③やや遅れている。 ④遅れている。

| |
|---|
| (区分) ②おおむね順調に進展している。 |
| (理由) マイクロダイセクション・マイクロアレイ解析による乳頭細胞特異的発現遺伝子群や和合・不和合受粉時特異的発現遺伝子群の同定に時間を要したために、候補遺伝子の機能解析が若干遅れている。しかし一方で、乳頭細胞プロトプラストの調製に成功し、in vitro 実験系が構築できたことから、動物細胞のCa ²⁺ シグナリング実験と同様な薬理的解析が可能になった。これにより、Ca ²⁺ シグナリング系に関与する分子の同定が順調に進むことが期待できる。 |

12. 今後の研究の推進方策

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。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。

| |
|---|
| 本申請では、以下の解析を行い、アブラナ科植物のアロ認識機構の全容を明らかにすると共に、動植物のアロ認識機構の共通点と相違点を明らかにする。 |
| 1) 乳頭細胞プロトプラストとレーザーマイクロインジェクション法による薬理的解析によりアロ認識時におけるCa ²⁺ 輸送体の性状を明らかにする。 |
| 2) マイクロダイセクション・マイクロアレイ解析で同定されたアロ認識情報伝達系の候補遺伝子について、候補遺伝子破壊株の作成と表現型解析、GFP モニタリングによる候補分子の挙動解析、FRET・BiFCによる候補分子とMLPK/SRKとの相互作用解析、免疫電顕による候補分子の局在解析を行ない、アロ認識との関連を調べる。 |
| 3) EMS 処理した自家不和合性シロイヌナズナについて、自家和合復帰突然変異体の探索を行ない、得られた変異体についてタイリングアレイを行なうことにより、原因遺伝子の同定を行なう。 |
| 4) リン酸化タンパク質や細胞膜マイクロドメイン構成タンパク質のプロテオミクス解析により、アロ認識のシグナル伝達に関わるタンパク質について生化学的探索を行なう。 |

13. 研究発表（平成23年度の研究成果）

※ 「13. 研究発表」欄及び「14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況」欄において記入欄が不足する場合には、適宜記入欄を挿入し、それによりページ数が増加した場合は、左端を糊付けすること。

〔雑誌論文〕 計 (3) 件 うち査読付論文 計 (3) 件

| 著者名 | 論文標題 | | | | | | |
|-------------------------------------|--|-----|-----|---|---|---------|-------------|
| Hirai, H | Glycosylation regulates specific induction of rice immune responses by Acidovorax avenae flagellin | | | | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | | | 最初と最後の頁 | |
| The Journal of Biological Chemistry | 有 | 286 | 2 | 0 | 1 | 1 | 25519-25530 |
| 掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子) | | | | | | | |
| doi:10.1074/jbc.M111.254029 | | | | | | | |

| 著者名 | 論文標題 | | | | | | |
|------------------------------|---|----|-----|---|---|---------|---------|
| Ikeda, Y. | HMG domain containing SSRP1 is required for DNA demethylation and genomic imprinting in Arabidopsis | | | | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | | | 最初と最後の頁 | |
| Developmental Cell | 有 | 21 | 2 | 0 | 1 | 1 | 589-596 |
| 掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子) | | | | | | | |
| 10.1016/j.devcel.2011.08.013 | | | | | | | |

| | | | | | | | |
|----------------------------------|---|----|-----|---|---|---------|-------|
| 著者名 | 論文標題 | | | | | | |
| Iwano, M. | Self/non-self discrimination in angiosperm self-incompatibility | | | | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | | | 最初と最後の頁 | |
| Current Opinion in Plant Biology | 有 | 15 | 2 | 0 | 1 | 2 | 78-83 |
| 掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子) | | | | | | | |
| 10.1016/j.pbi.2011.09.003 | | | | | | | |

〔学会発表〕 計 (6) 件 うち招待講演 計 (3) 件

| | | | | | | |
|--------------------|--|--|--|-----------|--|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | | | | |
| 岩野 恵 | アブラナ科植物自家・他家受粉過程で機能するCa ²⁺ 輸送体の探索 | | | | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | | | 発表場所 | | |
| 第27回医学生物学電子顕微鏡技術学会 | 2011年5月14日 | | | 四国大学 (徳島) | | |

| | | | | | | |
|----------------------|--------------------------------|--|--|--------------|--|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | | | | |
| 永井 里奈 | アブラナ科植物乳頭細胞の三次元電子線トモグラフィーによる解析 | | | | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | | | 発表場所 | | |
| 植物電子顕微鏡若手ワークショップ2011 | 2011年11月21日 | | | 理化学研究所 (神奈川) | | |

| | | | | | | |
|-----------------------------|---------------------------------|--|--|--------------|--|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | | | | |
| 岩野 恵 | 電子線トモグラフィーによる植物細胞オルガネラの可視化技術の開発 | | | | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | | | 発表場所 | | |
| 植物電子顕微鏡若手ワークショップ2011 (招待講演) | 2011年11月21日 | | | 理化学研究所 (神奈川) | | |

| | | | | | | |
|-----------------------------------|----------------------------|--|--|-----------|--|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | | | | |
| 岩野 恵 | アブラナ科植物受粉過程の超高压電顕トモグラフィー解析 | | | | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | | | 発表場所 | | |
| 超高压電子顕微鏡センター 医学・生物学系共同利用 研究報告会 | 2011年11月22日 | | | 大阪大学 (大阪) | | |

| | | | | | | |
|-----------------------------|--------------------------------------|--|--|-----------------------|--|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | | | | |
| 岩野 恵 | アブラナ科植物の受粉過程におけるCa ²⁺ の関与 | | | | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | | | 発表場所 | | |
| 第12回医学生物学電子顕微鏡シンポジウム (招待講演) | 2011年11月26日 | | | 浜松市駅ビル「メイワン」、 (静岡) | | |

| | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | | | | |
| Iwano, M. | Molecular mechanisms of self-incompatibility in Brassicaceae | | | | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | | | 発表場所 | | |
| XXII International Congress on Sexual Plant Reproduction (招待講演) | 2012年2月14日 | | | University of Melbourne (Australia) | | |

〔図書〕 計 (0) 件

| | | | | | | |
|-----|-----|--|--|-----|--|-------|
| 著者名 | 出版社 | | | | | |
| | | | | | | |
| | 書名 | | | 発行年 | | 総ページ数 |
| | | | | | | |

14. 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 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
| | | | | 出願年月日 | |
| | | | | | |

15. 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。

| |
|--|
| |
|--|