

様 式 Z - 7

## 平成 2 5 年度科学研究費助成事業 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 基盤研究(B) 4. 研究期間 平成 2 5 年度 ~ 平成 2 7 年度
5. 課題番号 

2	5	2	9	1	0	6	2
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 木部細胞分化を決定づける分子実態の解明

## 7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
4 0 2 7 2 0 0 9	デムラ タク 出村 拓	バイオサイエンス研究科	教授

## 8. 研究分担者

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

( 1 ) VND7遺伝子の発現におけるエピジェネティック制御：VND7遺伝子発現のエピジェネティック制御について、関連の阻害剤 ( 5-az a-dC 、 HDAC阻害剤：TSA・バルプロ酸など ) と関連遺伝子 ( HDAC、HAT、LSD、MET1等 ) の突然変異体や過剰発現体を組み合わせた解析を行った。このために、VND7プロモーター：レポーター ( GUS、YFPなど ) ラインと突然変異体の掛け合わせを進めた。

( 2 ) VND7遺伝子のシス因子とトランス因子：GATA5やそのホモログの機能を明らかにするために、プロモーター：GUS/YFPによる発現解析、過剰発現体と発現/機能抑制体 ( T-DNA挿入変異体、など ) の作出と表現型解析を行った。また、VND7のシス因子を絞り込むために蛍光相関分光法FCS ( Fluorescence Correlation Spectroscopy ) を用いたDNA-転写因子の結合解析システムを整備した。

( 3 ) VND7の機能制御メカニズム：VND7-VP16-GRを過剰発現させたシロイヌナズナをDEX処理することによって、植物体全体で人為的に異所的な道管分化を誘導することができる。この植物体での異所的な道管分化が抑制された復帰突然変異体として単離している8系統の詳細な表現型解析と責任遺伝子の同定を進め、2系統について責任遺伝子候補を同定した。

( 4 ) 維管束木部分化におけるsmall RNAの動態：VND7の第2エキソンのDNAボディメチル化に関するsmall RNAの関与について調査するために、シロイヌナズナ芽生え子葉における、木部分化誘導系の確立とトランスクリプトーム解析を行った。

## 10. キーワード

- ( 1 ) 細胞分化 ( 2 ) 道管 ( 3 ) 転写制御 ( 4 ) エピジェネティクス
- ( 5 ) 小分子RNA ( 6 ) ( 7 ) ( 8 )

## 11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

VND7遺伝子の発現におけるエピジェネティック制御の解析については、阻害剤と関連遺伝子突然変異体を用いた解析が進展したが、掛け合わせ実験がやや遅れ気味である。VND7遺伝子のシス因子とトランス因子の解析については、GATA5やそのホモログの機能解析が進み、VND7のシス因子を絞り込みが予想通りに進んだ。また、VND7の機能制御メカニズムの解析については、8系統の変異体のうち2系統について責任遺伝子候補を同定できた。さらに、維管束木部分化におけるsmall RNAの動態の解析については、今後の研究の基礎となるシロイヌナズナ芽生えでの木部分化誘導系の確立とトランスクリプトーム解析を終えることができた。このようにおおむね順調に進展していると判断している。

## 12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

(1) VND7遺伝子の発現におけるエピジェネティック制御：VND7遺伝子発現のエピジェネティック制御について、DNAメチル化とヒストンH3K27メチル化に加えて、ヒストンH3K4メチル化とヒストンH3K9アセチル化の影響も含めて、関連の阻害剤(5-aza-dC、HDAC阻害剤：TSA・パルプロ酸など)と関連遺伝子(HDAC、HAT、LSD、MET1等)の突然変異体や過剰発現体を組み合わせ、表現型(異所的道管形成頻度)解析とVND7遺伝子・下流遺伝子の発現解析を継続する。また、細胞特異的なエピジェネティック制御を明らかにするために、維管束特異的のマーカを用いたセルソーティングに新たに挑戦する。

(2) VND7遺伝子のシス因子とトランス因子：GATA5やそのホモログの機能を進める。おもに変異体等の表現型解析を行う。また、単光相関分光法FCS (Fluorescence Correlation Spectroscopy)を用いたDNA-転写因子の結合解析システムを用いて、VND7のターゲット遺伝子と繊維細胞マスター因子のSND1のターゲット遺伝子のシス因子を比較する。

(3) VND7の機能制御メカニズム：VND7-VP16-GRを過剰発現させたシロイヌナズナをDEX処理することによって、植物体全体で人為的に異所的な道管分化を誘導することができる。この植物体での異所的な道管分化が抑制された復帰突然変異体の責任遺伝子として同定されてきた遺伝子群の機能解析に注力する。

(4) 維管束木部分化におけるsmall RNAの動態：昨年度までに植物ホルモン投与によってシロイヌナズナ子葉を用いた木部分化誘導系を確立した。今年度は、この系におけるsmall RNAの動態を次世代高速DNAシーケンサーを用いて解析する。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

VND7遺伝子の発現におけるエピジェネティック制御の解析に関して、掛け合わせ実験がやや遅れているため、その機能解析(とくに遺伝子発現解析)にかかる費用が掛からなくなったことによる。

(使用計画)

遅れていた機能解析(とくに遺伝子発現解析)を集中的に進めるために物品購入に充てる。

## 13.研究発表(平成25年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(7)件 うち査読付論文 計(7)件

著者名		論文標題			
Bo Xu, 他		Contribution of NAC Transcription Factors to Plant Adaptation to Land			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Science	有	343	2   0   1   4	1505-1508	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1126/science.1248417					

著者名		論文標題			
Jie Zhou, Jingjing Wang, Yufang Bi, Like Wang, Luozhong Tang, Xiang Yu, Misato Ohtani, Taku Demura, Qiang Zhuge		Overexpression of PtSOS2 Enhances Salt Tolerance in Transgenic Poplars			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Plant Molecular Biology Reporter	有	32	2   0   1   3	185-197	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1007/s11105-013-0640-x					

著者名		論文標題			
Jie Zhou, Yang Yang, Juan Yu, Like Wang, Xiang Yu, Misato Ohtani, Miyako Kusano, Kazuki Saito, Taku Demura, Qiang Zhuge		Responses of Populus trichocarpa galactinol synthase genes to abiotic stresses			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Journal of plant research	有	127	2   0   1   4	347-358	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1007/s10265-013-0597-8					

著者名		論文標題			
Keiji Numata, Kumiko Morisaki, Satoshi Tomizawa, Misato Ohtani, Taku Demura, Masayuki Miyazaki, Yuichi Nogi, Shigeru Deguchi, Yoshiharu Doi		Synthesis of poly- and oligo (hydroxyalkanoate)s by deep-sea bacteria, Colwellia spp., Moritella spp., and Shewanella spp			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Polymer Journal	有	45	2   0   1   3	1094-1100	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1038/pj.2013.25					

著者名		論文標題			
Tetsuya Hisanaga, Ali Ferjani, Gorou Horiguchi, Naoko Ishikawa, Ushio Fujikura, Minoru Kubo, Taku Demura, Hiroo Fukuda, Takashi Ishida, Keiko Sugimoto, Hirokazu Tsukaya		The ATM-dependent DNA damage response acts as an upstream trigger for compensation in the fast mutation during Arabidopsis leaf development			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Plant Physiology	有	162	2   0   1   3	831-841	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1104/pp.113.216796					

著者名		論文標題			
Wushuang Liu, Weina Zhang, Minghui Du, Yuqing Sha, Xiang Yu, Misato Ohtani, Taku Demura, Qiang Zhuge		Diurnal and circadian expression of clock-associated pseudo-response regulators in Populus trichocarpa			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Plant Biotechnology	有	30	2   0   1   3	517-521	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.5511/plantbiotechnology.13.0905a					

著者名		論文標題			
Takashi Hirayama, Takakazu Matsuura, Sho Ushiyama, Mari Narusaka, Yukio Kurihara, Michiko Yasuda, Misato Ohtani, Motoaki Seki, Taku Demura, Hideo Nakashita, Yoshihiro Narusaka, Shimpei Hayashi		A poly (A)-specific ribonuclease directly regulates the poly (A) status of mitochondrial mRNA in Arabidopsis			
雑誌名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Nature communications		有	4	2   0   1   3	2247
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1038/ncomms3247					

(学会発表) 計(10)件 うち招待講演 計(1)件

発表者名		発表標題	
中野仁美, 他		木本におけるデザインバイオマス	
学会等名		発表年月日	発表場所
第55回日本植物生理学会年会(招待講演)		2014年03月18日	富山大学

発表者名		発表標題	
Harunori Kawabe, 他		Isolation of the suppressor mutants that avoid ectopic xylem vessel formation in Arabidopsis	
学会等名		発表年月日	発表場所
第55回日本植物生理学会年会		2014年03月18日	富山大学

発表者名		発表標題	
鈴木崇臣, 他		VND7過剰発現による致死性を抑圧する新規因子の遺伝学的単離	
学会等名		発表年月日	発表場所
第55回日本植物生理学会年会		2014年03月18日	富山大学

発表者名	発表標題	
Nur Ardiyana Rejab, 他	Functional analysis of Tracheary Element Differentiation-Related6 (TED6) and TED7 in secondary cell wall formation	
学会等名	発表年月日	発表場所
第55回日本植物生理学会年会	2014年03月18日	富山大学

発表者名	発表標題	
Taizo Tamura, 他	Analysis of the transcriptional regulation mechanism of VND and NST in secondary cell wall formation	
学会等名	発表年月日	発表場所
第55回日本植物生理学会年会	2014年03月18日	富山大学

発表者名	発表標題	
Minoru Kubo, 他	Transcriptional analysis of plant reprogramming at single cell level	
学会等名	発表年月日	発表場所
第55回日本植物生理学会年会	2014年03月18日	富山大学

発表者名	発表標題	
Hitoshi Endo, 他	Towards understanding molecular mechanisms of temporal and spatial expression of a master gene for xylem vessel formation	
学会等名	発表年月日	発表場所
第55回日本植物生理学会年会	2014年03月20日	富山大学

発表者名	発表標題	
Hitoshi Endo, 他	REGULATION OF THE EXPRESSION OF VND7 GENE ENCODING A MASTER REGULATOR FOR XYLEM VESSEL FORMATION BY A GATA TYPE TRANSCRIPTION FACTOR	
学会等名	発表年月日	発表場所
International Conference on Arabidopsis Research 2013	2013年06月24日～2013年06月28日	オーストラリア・シドニー

発表者名	発表標題	
Takenaka Yuto, 他	GENETIC SCREENING FOR NOVEL REGULATORY FACTORS OF SECONDARY CELL WALL FORMATION DURING XYLEM VESSEL CELL DIFFERENTIATION IN ARABIDOPSIS	
学会等名	発表年月日	発表場所
International Conference on Arabidopsis Research 2013	2013年06月24日～2013年06月28日	オーストラリア・シドニー

発表者名	発表標題	
Masatoshi Yamaguchi, 他	VND-INTERACTING PROTEIN2 is controlled by ubiquitin-mediated proteolysis	
学会等名	発表年月日	発表場所
Cell Wall Meeting 2013	2013年07月07日～2013年07月12日	フランス・ナント

〔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

--