

様式 Z - 7

平成27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) (一般) 4. 研究期間 平成26年度～平成28年度
5. 課題番号

2	6	2	9	1	0	6	2
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 植物免疫におけるヒストン修飾を介した遺伝子発現の制御

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
5 0 5 8 7 7 6 4	サイジョウ ユウスケ 西條 雄介	バイオサイエンス研究科	准教授

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

ゲノムワイドのRNA-seq解析によるプライミング標的遺伝子のリスト化を行った。病原細菌*Pseudomonas syringae* pv *tomato* DC3000 (Pst) AvrRpm1をETIのトリガーとして、Pst hrpSをPTIのトリガーとして、発芽後4週間ほどのシロイヌナズナ個体の下層の葉に一次接種して、48時間後に上層のシステミック葉に水刺激を与えてから1時間後の発現プロファイルを得て (Illumina HiSeq 2000、シングルエンド100 bpで各サンプル15Mリード以上)、比較解析した。これらのプライミング標的遺伝子をクラスター化したところ、プライミング強度についてETI>PTIの遺伝子に加えてETI<PTIのものや、プライミングの結果、抑制が強固になっている遺伝子も多数同定された。現在、各クラスターの代表遺伝子についてqRT-PCR解析により確認作業を進めている。in silico解析により、プライミング標的遺伝子に有意にエンリッチ (共有) された何種類かのシス配列を見出しており、これらに関する情報集めを進めるとともに生理意義を確かめる実験を考案中である。次に、ETI誘導型のプライミングが低下したPRC2関連の変異体植物を用いて上記と同様にしてRNA-seq解析を行っており、PRC2依存的なプライミング標的遺伝子のリストが間もなく得られる予定である。さらに、ゲノムワイドのChIP-seq解析によってプライミング成立の際のH3K4me3・K3K27me3の標的遺伝子座を同定するため、上述の条件で調製した一次接種48時間後のシステミック葉を、H3K4me3・K3K27me3に対する特異的抗体を用いたChIPシーケンス解析に供する計画で準備を進めている。

10. キーワード

- (1) 植物免疫 (2) ヒストン修飾 (3) 遺伝子発現 (4) _____
 (5) _____ (6) _____ (7) _____ (8) _____

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(1 / 5)

11. 現在までの進捗状況

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

大部分が新規のプライミング標的遺伝子(候補)を含む、プライミング成立時のRNA-seq解析プロファイルが得られた(申請者の知る限り、他に報告例はない)ため、今後の研究の推進が大いに計算できる状況になった。標的遺伝子のクラスター化によって、ETIとPTIがシステミックプライミングに及ぼす影響を俯瞰的に捉えることのみならず、様々な応答パターンを代表する標的遺伝子のリストが得られた。その後、当初の提案は変更して、それらの遺伝子産物のシステミック免疫における機能の解析よりは、むしろプライミングの成立基盤に迫る上で有用なマーカー遺伝子の選定やプライミングに重要なシス配列の同定を優先して進めている。遺伝子発現制御における役割が報告されている、いくつか興味深いシス配列がプライミング標的遺伝子のクラスターごとにエンリッチされているのを見出しておりそれらに着目している。続いて、PRC2関連の変異体と野生型植物を比較する形でRNAseqを実施している。一方、抗H3K4me3・K3K27me3抗体を用いたChIP-seq解析について条件の至適化を進めて、現在新しく解析を展開中である。得られる結果の独自性・先駆性が高いことは明らかである。また予算的には、基金の多くを翌年度に繰り越すことができ、さらに博士研究員が本学の特任助教として採用されたためさらに研究体制が充実したものとなった。したがって、総合的には概ね順調に進んで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)

平成27年度より生化学実験に習熟した博士研究員(現在は特任助教)が本研究に従事しており、研究計画を加速度的に進展できると期待している。ChIP-seq解析についても、システミック葉の位置や展開度(成長度)に応じてプライミング強度が異なることを示す、新たな結果を得て、ばらつきの大さの原因が特定できたと考えている。この点に配慮して、現在ChIP-seq解析を進めている。当初の狙い通りH3K4me3・K3K27me3の標的領域およびその標識のダイナミズムをゲノムワイドで明らかにしたい。その結果、プライミング状態とヒストン標識の関連性についてゲノムレベルで評価できると考えている。続いて、特定のETI誘導性プライミング標的遺伝子についてChIP-PCR解析を行うことで、H3K4me3・K3K27me3標識並びにPoIII(転写活性化型のC末端領域のリン酸化型)結合についての情報を得る。その結果、ヒストン修飾・PoIIIポーシング・プライミング状態との機能的連携のメカニズムに迫るモデル系の起ち上げに尽力する。その際、現在進行中のPRC2依存的なプライミング標的遺伝子に関するRNAseqデータを活用することで、PRC2が直接的に、あるいは他のヒストン修飾を協調的に免疫応答関連遺伝子の発現制御やその記憶化を調節するメカニズムに迫りたい。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

ChIP-seq解析に関して、実験条件の再検討・至適化をまず行っていたため、その解析経費を次年度使用額としているため。

(使用計画)

PRC2関連の変異体のRNAseq解析とともにChIP-seq解析を行うことで、PRC2依存的にプライミングされる標的遺伝子のリスト化とPRC2によるH3K27me3やそれと協調的に働くヒストン修飾の標的部位をゲノムワイドに決定する。

(課題番号: 26291062)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(2 / 5)

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(1)件/うち査読付論文 計(1)件/うち国際共著論文 計(0)件/うちオープンアクセス 計(0)件

著者名		論文標題				
Saijo Y. and Yamada K.		Fine control of plant immunity through recognition of danger-associated molecular patterns.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Jpn. J. Phytopathol	有	81	2015	322-331	-	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
doi.org/10.3186/jjphytopath.81.322						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

(学会発表) 計(2)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(0)件

発表者名		発表標題	
REIMER-MICHALSKI EVA-MARIA, LOO ELIZA PO-ILIAN, 田島 由理, KRACHER BARBARA, TURCK FRANZISKA, 西條 雄介		Histone Methylation-mediated Control for Systemic Priming and Resistance in Arabidopsis	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本植物生理学会年会	2016年03月20日	盛岡大学(岩手県盛岡市)	

発表者名		発表標題	
田島 由理, 西條 雄介		ポリコム群タンパク質は植物免疫を正に制御する	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本植物生理学会年会	2016年03月20日	盛岡大学(岩手県盛岡市)	

(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. 科研費を使用して開催した国際研究集会

(国際研究集会) 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16.本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1)国際共同研究：国際共同研究である

共同研究相手国	相手方研究機関			
ドイツ	Max Planck Institute	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	/	/	/	/

17.備考