

平成27年度科学研究費助成事業（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（研究領域提案型） 4. 研究期間 平成26年度～平成27年度

5. 課題番号

2	6	1	1	3	5	1	4
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 一細胞遺伝子発現解析を用いたステム・ニッチ形成機構の解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
3 0 3 4 2 7 7 8	クボ ミノル 久保 稔	研究推進機構	特任准教授

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

本研究課題では植物の持つ高い再生能力の仕組みを明らかにするために、分化した細胞から幹（ステム）細胞を生じるリプログラミング過程において一細胞ごとの遺伝子発現解析を行うことを目的としている。そのために平成27年度は、切断した葉が容易に幹細胞にリプログラミングし、陸上植物と80%以上の発生過程に関わる遺伝子が保存されているヒメツリガネゴケを用いて、1. 葉細胞からの一細胞遺伝子発現プロファイルの取得、2. 一細胞遺伝子発現解析のためのNGSデータ前処理解析パイプラインの構築、3. 一細胞遺伝子発現プロファイルの評価と解析法の検討という3つの課題について研究を行った。

1については切断葉における一細胞からの細胞抽出液を用いたNGS解析が可能か検討を行った。切断直後（0h）と24時間後（24h）のヒメツリガネゴケの葉において、切り口に面したそれぞれ葉細胞から細胞液をマイクロキャピラリーによって抽出し、これまでに確立した方法でcDNA合成を行った。その後、次世代シーケンサーによる解析を行った。

2については1で得られたシーケンスデータを、1) サンプルごとのインデックスの振り分け、2) cDNA配列の整形、3) cDNA配列のリファレンスゲノムへのマッピング、4) cDNAに対応するランダムバーコード配列のアセンブル、5) アセンブル後のランダムバーコード配列の計数を順次行う必要があり、これらの前処理を行う情報解析パイプラインを構築した。

3については1、2で得られた一細胞遺伝子発現データを用いて、多変量解析を行った。発現解析に利用可能な1サンプルあたり約20万タグの塩基配列が得られ、一細胞あたり約4000遺伝子が検出された。また、独立成分分析を行ったところ、0hと24hのサンプルでは明確に2つのグループに分けることができた。さらに発現変動している遺伝子として、0h、24hでそれぞれ501遺伝子、394遺伝子が有意に高発現している遺伝子として検出された。

10. キーワード

- | | | | |
|-----------|--------------|----------------|----------------|
| (1) 一細胞解析 | (2) リプログラミング | (3) 次世代シーケンシング | (4) トランスクリプトーム |
| (5) 幹細胞 | (6) 分化転換 | (7) 細胞間相互作用 | (8) |

11. 現在までの進捗状況

(区分)
(理由) 27年度が最終年度であるため、記入しない。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策) 27年度が最終年度であるため、記入しない。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(0)件/うち査読付論文 計(0)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				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
オープンアクセス						

(学会発表) 計(6)件/うち招待講演 計(2)件/うち国際学会 計(2)件

発表者名		発表標題	
久保 稔, 西山 智明, 佐野 亮輔, ダニエル ラング, 出村 拓, ラルフ レスキー, 長谷部 光泰		植物リプログラミング研究に向けた1細胞遺伝子発現解析	
学会等名	発表年月日	発表場所	
NGS現場の会第四回研究会	2015年07月01日 ~ 2015年07月03日	つくば国際会議場(茨城県つくば市)	

発表者名		発表標題	
久保 稔		1細胞遺伝子発現解析で探る植物細胞分化とリプログラミング	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本植物学会第79回大会(招待講演)	2015年09月06日 ~ 2015年09月08日	朱鷺メッセ・新潟コンベンションセンター(新潟県新潟市)	

発表者名	発表標題	
寺田 志織、久保 稔、佐野 亮輔、坂本 智昭、倉田 哲也、Xu Bo、野村 俊尚、浦崎 直也、米田 新、大谷 美沙都、加藤 晃、出村 拓	オオミズゴケの貯水機能に関わる細胞分化の分子機構の解明	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本植物学会第79回大会	2015年09月06日 ~ 2015年09月08日	朱鷺メッセ・新潟コンベンションセンター(新潟県新潟市)

発表者名	発表標題	
Minoru Kubo, Tomoaki Nishiyama, Ryosuke Sano, Daniel Lang, Taku Demura, Ralf Reski, Mitsuyasu Hasebe	Single cell transcriptome analysis of reprogramming process in excised leaves of <i>Physcomitrella patens</i>	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 18th Annual Moss International Conference Moss2015(国際学会)	2015年11月30日 ~ 2015年12月03日	Cancun, Mexico

発表者名	発表標題	
Shiori Terada, Minoru Kubo, Ryosuke Sano, Tomoaki Sakamoto, Tetsuya Kurata, Toshihisa Nomura, Taku Demura	Molecular mechanisms underlying differentiation of hyaline cells in <i>Sphagnum palustre</i> L.	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 18th Annual Moss International Conference Moss2015(国際学会)	2015年11月30日 ~ 2015年12月03日	Cancun, Mexico

発表者名	発表標題 【発表確定】	
久保 稔	植物におけるリプログラミングと細胞分化研究のための1細胞遺伝子発現解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第68回日本細胞生物学会大会(招待講演)	2016年06月15日 ~ 2016年06月17日	京都テルサ(京都府京都市)

(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	フライブルク大学	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	/	/	/	/

17.備考