

様式 C - 7 - 1

平成29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）

| | | | | |
|-----------|----|---------------|------|-------|
| 所属研究機関名称 | | 奈良先端科学技術大学院大学 | 機関番号 | 14603 |
| 研究 代表者 | 部局 | バイオサイエンス研究科 | | |
| | 職 | 特別研究員(DC1) | | |
| | 氏名 | 杉山 輝樹 | | |

1. 研究種目名 特別研究員奨励費 2. 課題番号 17J04539

3. 研究課題名 シロイヌナズナの根端分裂領域サイズを決定する分子機構の解明

4. 研究期間 平成29年度～平成31年度 5. 領域番号・区分 -

6. 研究実績の概要

シロイヌナズナの根の表皮は根毛細胞と非根毛細胞の2種類の細胞によって構成されており、両者の違いは根毛形成の有無のみならず、根毛細胞の方が非根毛細胞よりも分裂活性が高いことを明らかにしている。今までの結果から、非根毛細胞特異的に働く転写因子複合体であるNC複合体がクロマチン構造や転写を制御することによって非根毛細胞の細胞周期を抑制しているため根毛細胞と非根毛細胞の細胞周期活性に違いが生じていることが示唆されている。近年の報告から、5-ethynyl-2 deoxyuridine (EdU)の取り込み実験やT-clone解析のような細胞周期の一周の長を比較する実験が確立されている (Hayashi et al., 2013, Berger et al., 1998)。そこでこれらの実験を用いて根毛細胞と非根毛細胞の細胞周期一周の長さを比較した結果、根毛細胞の方が非根毛細胞よりも細胞周期の一周の長さが短いことが明らかとなった。また、細胞周期マーカーであるCyttrapやPCNA-GFPを用いてライブセルイメージングを行い各細胞周期のフェーズの長さを定量した結果、非根毛細胞と根毛細胞で細胞周期のフェーズの長さが異なるために、根毛細胞の方が細胞周期一周の長さが短いことが明らかとなった。また、NC複合体の変異体を用いてEdUの取り込み実験やT-clone解析を行った結果、根毛細胞と非根毛細胞間で細胞周期の一周の長さに有意な差は見られなくなった。ゲノム上のクロマチンが緩んでいるfas2-4変異体でもNC複合体の変異体と同様な表現型が見られたことと併せて考えると、「NC複合体によってクロマチン構造や転写を制御することによって、表皮の細胞種で異なる細胞分裂活性を生み出している」という我々の仮説が支持されたと考えている。

7. キーワード

細胞周期 シロイヌナズナ ライブイメージング 表皮細胞

8. 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

ライブセルイメージングの系を立ち上げ、根毛細胞と非根毛細胞で具体的に細胞周期がどのように異なるのを明らかにすることができた。また、これらの差を生み出すためにNC複合体がクロマチン構造や転写を制御することが重要であることを明らかにし、今後の研究に道筋をつけることができた。今後はNC複合体の下流因子を単離することによって、NC複合体がどのようにクロマチン構造や細胞周期を制御するのかを明らかにしていく必要がある。また、根毛細胞と非根毛細胞を比較して具体的にどのようなクロマチン構造の違いが細胞周期に影響を与えているのかも明らかにする必要がある。

2 版

9. 今後の研究の推進方策

根毛細胞と非根毛細胞の違いは、分化領域での根毛形成の有無のみだけでなく、メリステムでの分裂活性も異なる。NC複合体の変異体では、根毛細胞と非根毛細胞の分裂活性における有意な差が見られなくなったことから、非根毛細胞特異的に働く転写因子複合体であるNC複合体が表皮の細胞種特異的に細胞分裂活性を制御している鍵因子であると考えられた。今後はNC複合体の下流因子を単離するためにNC複合体の変異体や野生型植物を用いて、RNA-seqなどの網羅的な解析を行う。その後網羅的な解析によって得られた候補因子の変異体を用いた表現型解析やレポーター遺伝子を利用した発現解析を行う。

また、根毛細胞と非根毛細胞で細胞周期制御に必要なクロマチン構造制御を明らかにするために、FACS (fluorescence activated cell sorting)を用いて根毛細胞と非根毛細胞をソーティングし、エピジェネティックな修飾状態を比較する。

10. 研究発表（平成29年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 杉山輝樹、高塚大知、梅田正明 |
| 2. 発表標題 Control of the cell cycle in two distinct cell files of the root epidermis |
| 3. 学会等名 2017年度細胞周期合同セミナー |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Teruki Sugiyama, Hiroto Takatsuka, Umeda Masaaki |
| 2. 発表標題 Functional analysis of CDK inhibitor in stem cell maintenance |
| 3. 学会等名 2017年度新学術領域研究「植物多能性幹細胞」若手ワークショップ |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Teruki Sugiyama, Hiroto Takatsuka, Umeda Masaaki |
| 2. 発表標題 Cell-type specific cell cycle regulation in the root epidermis |
| 3. 学会等名 Mechanisms in plant development (国際学会) |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---------------------------------|
| 1. 発表者名 杉山輝樹、高塚大知、梅田正明 |
| 2. 発表標題 CDK阻害因子による幹細胞維持機構の解明 |
| 3. 学会等名 2018年度植物生理学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

1 1. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

1 4. 備考

-