

様式 C - 7 - 1

平成30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	先端科学技術研究科		
	職	特別研究員(PD)		
	氏名	久永 哲也		

1. 研究種目名 特別研究員奨励費 2. 課題番号 17J08430

3. 研究課題名 コケ植物における性決定機構の解明

4. 研究期間 平成29年度～令和元年度 5. 領域番号・区分 -

6. 研究実績の概要

前年度までの研究により、MpFGMYBがゼニゴケの雌性分化に重要であり、その欠損変異体雌株がオス株化することを見出していた。本年度はMpFGMYB-Citrine融合タンパク質をMpFGMYBプロモーター制御下で発現するコンストラクトをMpfmyb変異体に導入し、このコンストラクトが変異体の表現型を相補することを確認した。さらにこの形質転換体を用いてMpFGMYBの時空間的な発現パターンを詳細に解析した。その結果MpFGMYBが形成初期の雌性生殖枝原基において発現開始することを明らかにした。MpFGMYBの発現はオス株においてFGMYBの逆鎖ノンコーディングRNAであるSUFの発現により抑えられていることが前年度までに判明していた。本年度はSUFの作用機序の手掛かりを得るための実験を進めた。その結果、SUFがFGMYBの発現を抑制するためにはSUFとMpFGMYBとが同一の遺伝子座に存在する必要があることを明らかにした。これらの結果からMpFGMYB/SUF遺伝子座がゼニゴケの雌雄を制御する切り替えスイッチとして働いていることが明らかとなった。以上の結果と前年度までに明らかにしていた結果とを論文としてまとめ、EMBO Journal誌に発表した。また、今年度はゼニゴケの卵細胞において特異的に発現する転写因子に着目し、その機能解析を行った。機能欠損変異体の表現型解析および融合タンパク質を用いた相補体の観察から、ある転写因子の受精後の一過的な機能が、その後の胚発生に重要であることを見出した。現在、これらの結果をまとめた論文を投稿準備中である。

7. キーワード

性分化 転写因子 ノンコーディングRNA ゼニゴケ 有性生殖 胚発生 受精 配偶子分化

8. 現在までの進捗状況

区分 (1) 当初の計画以上に進展している。

理由
今年度はまず、MpFGMYBの詳細な発現パターンの解析を行い、MpFGMYBの発現が雌器床の形態的な分化に先立って発現することを見出した。この結果はMpFGMYBが機能することにより雌性分化が起こるという想定に矛盾しない。またオスにおいてMpFGMYBの発現を抑制している逆鎖ノンコーディングRNA、SUFの作用機序を明らかにするための実験を行った。この実験からSUFがFGMYBの発現をシスに抑制することを明らかにした。これらの実験結果を前年度までの結果と合わせて論文を執筆しEMBO Journal誌に発表した。

さらに今年度は、雌性分化の最終産物である卵細胞の機能に着目した研究においても興味深い知見が得られた。卵細胞が分化しないMprkd変異体と野生型の比較トランスクリプトーム解析の結果から、卵細胞特異的に発現する転写因子MpkNOX1を同定した。Mpknox1変異体の表現型を詳細に解析した結果、Mpknox1の雌親における欠損が、受精後の胚発生に影響することを見出した。さらに、gMpkNOX1-GFPの観察によりMpkNOX1が受精前の卵細胞細胞質に蓄積していること、また、MpkNOX1が受精後一過的に核移行することを見出した。これらの結果から、MpkNOX1が卵細胞において準備されている、胚発生開始のための鍵因子であると考えられた。以上に述べたように、当初の目的の一つであるMpFGMYBの発現制御機構の一端を明らかにできた上に、関連するプロジェクトにおいても興味深い結果を得られたことから、本研究課題は当初の計画以上に進展していると考えている。

2 版

9. 今後の研究の推進方策

上記MpKNOX1の機能を探索する過程で、ゼニゴケの受精を試験管内で行いその後2週間にわたって試験管内で胚発生を進行させる方法を確立した。この方法で準備した受精卵および初期胚を固定、染色、透明化し共焦点顕微鏡による観察を行い、ゼニゴケの初期胚発生の進行を詳細に解析した。受精後6時間の段階で、精子の核は受精卵細胞質内で脱凝縮し雄性前核を形成することを見出した。この雄性前核は受精後約3日間にわたって維持され、核融合は受精後4日目に起こることを見出した。雌雄前核の融合までに比較的長時間を要することから、雌雄のゲノムに対してクロマチン再構成などの様々な変化が起こっているのではないかと推測された。最終年度はこの系と免疫組織化学的手法を組み合わせ、ゼニゴケの配偶子形成から受精、胚発生までの間のクロマチン動態に着目した研究を展開する。

10. 研究発表(平成30年度の研究成果)

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

1. 著者名 Hisanaga Tetsuya, Okahashi Keitaro, Yamaoka Shohei, Kajiwaro Tomoaki, Nishihama Ryuichi, Shimamura Masaki, Yamato Katsuyuki T, Bowman John L, Kohchi Takayuki, Nakajima Keiji	4. 巻 38
2. 論文標題 A cis acting bidirectional transcription switch controls sexual dimorphism in the liverwort	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 e100240 ~ e100240
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.2018100240	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Tetsuya Hisanaga, Keitaro Okahashi, Shohei Yamaoka, Ryuichi Nishihama, Masaki Shimamura, Katsuyuki T. Yamato, Takayuki Kohchi and Keiji Nakajima.
2. 発表標題 A bidirectional transcription switch controls sexual differentiation in Marchantia polymorpha.
3. 学会等名 The 25th International Congress on Sexual Plant Reproduction(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tetsuya Hisanaga, Shota Fujimoto and Keiji Nakajima.
2. 発表標題 Maternally expressed MpKNOX1 triggers embryo development in Marchantia polymorpha.
3. 学会等名 The 25th International Congress on Sexual Plant Reproduction(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tetsuya Hisanaga, Shota Fujimoto and Keiji Nakajima.
2. 発表標題 Maternally expressed MpKNOX1 triggers embryo development in Marchantia polymorpha.
3. 学会等名 EMBO workshop New shores in land plant evolution (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 久永 哲也、藤本 翔大、中島 敬二
2. 発表標題 卵細胞で発現するMpKNOX1がゼニゴケの胚発生を制御する
3. 学会等名 第82回日本植物学会大会
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

ゼニゴケは遺伝子のオモテとウラを使って メスとオスを作り分けている
<http://www.naist.jp/pressrelease/2019/01/005492.html>
 ゼニゴケは遺伝子のオモテとウラを使ってメスとオスを作り分けている
<https://bsw3.naist.jp/research/index.php?id=1778>