

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	研究推進機構		
	職	特別研究員(RPD)		
	氏名	古田 かわり		

1. 研究種目名 特別研究員奨励費 2. 課題番号 18J40278

3. 研究課題名 植物寄生における、寄生 宿主植物間のシンプラスト輸送路の構築

4. 研究期間 平成30年度～平成35年度 5. 領域番号・区分 -

6. 研究実績の概要

ハマウツボ科の寄生植物は、根に吸器と呼ばれる器官を形成し、宿主植物から水や光合成産物を獲得する。このとき、光合成産物の輸送路である維管束篩部様組織がどのように構築されるかは全く不明である。本研究では、寄生植物のモデル植物としてハマウツボ科のコシオガマを、宿主植物のモデル植物としてシロイヌナズナを用い、植物寄生における篩部様輸送経路の構築機構を明らかにすることを目的としている。

本年度はまず、吸器内の篩部様輸送路の細胞の性質を解明するために、コシオガマをシロイヌナズナに寄生させたときのコシオガマのRNA-seqのデータを解析した。この解析により、吸器内において一部の篩部関連遺伝子のコシオガマのホモログが発現誘導されることが見出された。これまで、シロイヌナズナの篩部形成に必要な因子がコシオガマの吸器形成においては発現しないことが報告されていたが、本解析により吸器における篩部様細胞の構築の可能性が見出された。

また同時に、コシオガマをシロイヌナズナに寄生させたときのシロイヌナズナのRNA-seqのデータを解析した。その結果、宿主植物の篩部で選択的に発現している遺伝子の一部が寄生により発現変動することが明らかになり、寄生により宿主植物の篩部の形態や機能が変化することが見出された。また、コシオガマを篩部機能に異常のある宿主植物の突然変異体に、条件を変えて寄生させる実験を行った結果、一部の条件においては寄生プロセスが遅れることが分かり、寄生プロセスにおける宿主植物の篩部の重要性が示唆された。

さらに、寄生 宿主植物間のシンプラスト経路の構築において、寄生植物の吸器と宿主植物の維管束篩部の細胞配置を詳細に解析するために、共焦点顕微鏡を用いた3次元イメージングを行った。

7. キーワード

寄生 吸器形成 コシオガマ シロイヌナズナ 維管束 篩部輸送 シンプラスト輸送路

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
本年度は、寄生プロセスにおける宿主植物の篩部の形態変化やその分子機構を解明するために、まず宿主植物の篩部マーカーが、寄生においてどのように変化するかを明らかにする計画を立てていた。これに関しては、計画通り、コシオガマをシロイヌナズナに寄生させたときの宿主植物のRNA-seqのデータを解析した。また、寄生プロセスにおける宿主植物の篩部マーカーの発現変化の観察も開始した。さらに、篩部機能異常を示す宿主植物の突然変異体を用いて、寄生プロセスにおける宿主植物の篩部の重要性を検証する実験を計画通り行った。

また、寄生において吸器形成は開始されるが、シンプラスト輸送路が構築できないような宿主植物の突然変異体スクリーニングを計画していた。これにはまず、突然変異体スクリーニングに用いる指標を探索する必要があると考え、本年度は、寄生プロセスにおける宿主植物のRNA-seqデータの解析や、維管束篩部によってシンプラスト輸送されると報告されている物質を用いてシンプラスト輸送の可視化を行った。

さらに、吸器内のシンプラスト輸送路の細胞の性質を解明するために、吸器のシンプラスト輸送路を構成する細胞で特徴的に発現するマーカーを探索する計画を立てていた。これに関して、計画通り、コシオガマをシロイヌナズナに寄生させたときのコシオガマのRNA-seqデータを解析し、発現誘導される篩部特異的遺伝子のホモログを見出した。また、見出した一部の篩部関連遺伝子については、マーカーをコシオガマへ導入する実験を開始した。

2 版

9. 今後の研究の推進方策

まず、寄生プロセスにおける宿主植物の節部の形態変化やその分子機構を解明するために、宿主植物の節部マーカーが、寄生においてどのように変化するかを明らかにする。これまでに、コシオガマをシロイヌナズナに寄生させたときの宿主植物のRNA-seqのデータ解析から、寄生において宿主植物で発現変動する節部関連遺伝子が見出されているため、その発現様式や機能を詳細に解析していく。また、このプロセスにおける宿主植物の節部の必要性についても検証していく。さらに、寄生におけるシンプラスト輸送路の構築の分子機構を解明するために、吸器形成は開始されるがシンプラスト輸送路が構築できないような宿主植物の突然変異体スクリーニングを行う。現在、突然変異体スクリーニングの指標を探索しているが、指標が見つかり次第宿主植物に変異原処理を行い、突然変異体スクリーニングする。得られた突然変異体については、原因遺伝子の同定や発現解析などの分子生物学的な解析を行う。

また、寄生 宿主植物間において、シンプラスト輸送路がどのように構築されているかを明らかにするために、コシオガマ吸器とシロイヌナズナの維管束組織との連結部位について観察を行う。特に、原形質連絡などの細胞内微細構造を見るために、SBF-SEMを用いた3次元電子顕微鏡イメージングを行う。

さらに、コシオガマ吸器内のシンプラスト輸送路の構築機構を明らかにする。まず、吸器におけるシンプラスト輸送路の細胞の性質を解析するため、引き続き、RNA-seqデータから吸器のシンプラスト輸送路を構成する細胞で特徴的に発現するマーカーを探索する。発現するマーカー遺伝子を指標に、セルソーティングとRNA-seqを組み合わせたトランスクリプトーム解析を行う。このトランスクリプトーム解析により見出された遺伝子の機能解析を行い、吸器のシンプラスト輸送路の細胞の性質を記述する。

10. 研究発表（平成30年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

11. 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）

12. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

13. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

14. 備考

-