

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		植物染色体の可視化・人為操作法の開発による生殖ダイナミクスの制御と解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Visualization and manipulation of plant chromatin dynamics during plant reproduction			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) タケウチ	名) ヒデノリ	研究期間 B	2017 ~ 2018 年
	漢字 CB	武内	秀憲	報告年度 YR	2018 年
	ローマ字 CZ	Takeuchi	Hidenori	研究機関名	名古屋大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所・特任助教			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>二種類の細胞が混ざり合う受精過程において、染色体の状態は構造ドメイン(セントロメアやヘテロクロマチン等) レベル・遺伝子レベルでダイナミックに変化する。植物においても、染色体の状態すなわちエピゲノム情報の再編成が受精後の胚・胚乳の正常な発生に重要であることが知られているが、染色体の大規模な構造変化や個々の遺伝子に対するエピゲノム制御の実態とその重要性は不明な点が多い。本研究では、植物において汎用性高く用いることのできる染色体領域の可視化法およびエピゲノムの人為操作法の確立を試み、染色体レベル・遺伝子レベルでの植物生殖ダイナミクスの理解を目指した。</p> <p>染色体の特定の領域を可視化してライブ解析するために、dCas9、複数種の蛍光タンパク質と RNA 結合タンパク質を融合させたもの、および複数種類のガイド RNA のそれぞれを発現するベクターを作出した。ベンサミアナタバコの葉で一過的に発現させることで、セントロメアやテロメアといった複数の染色体領域を同時に可視化できることを確認した。シロイヌナズナの安定的な形質転換体においては、生殖組織を含む様々な細胞で複数の蛍光シグナルを観察できた。また、エピゲノム情報を誘導的に操作するために、生殖細胞に特異的なプロモーターで DEX 応答性のキメラ転写因子を発現する背景植物シリーズの作出、タグを付加した dCas9 タンパク質およびタグを認識するエピゲノム編集酵素のそれぞれをキメラ転写因子で発現させるためのベクターの構築を行った。以上の系を組み合わせつつ、導入するガイド RNA の配列を検討することで、様々な染色体領域の同時可視化と誘導的なエピゲノム情報操作を達成し、植物の生殖過程におけるエピゲノムダイナミクスの重要性を検証できると期待される。</p>					
キーワード FA	植物生殖	染色体	エピゲノム編集		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

In sexual reproduction processes, chromatin states, including structural organization (e.g. centromere, heterochromatin) and regulatory marks for each gene, dynamically change. In flowering plants, reorganization of epigenetic marks plays an important role for normal development of embryo and endosperm after fertilization. However, how reorganization of chromatin structure and epigenetic regulation of each gene contribute to proper development are still unclear. In this study, we aimed to develop systems for visualizing plant chromatin regions and manipulating epigenetic information, and to investigate epigenetic dynamics in plant reproduction.

To visualize target chromatin region in living cells, expression vectors for dCas9, multiple sets of fluorescent protein fused with RNA-binding protein, and guide RNAs were constructed and introduced in *Nicotiana benthamiana* leaf cells, confirming that the system worked to simultaneously mark multiple chromatin regions such as centromere and telomere. Expression of them in stable transformants of *Arabidopsis thaliana* resulted in multiple fluorescence in nuclei of reproductive tissues. To manipulate epigenetic information of specific cell types in an inducible manner, *A. thaliana* plant lines expressing DEX-inducible chimeric transcription factor in each of specific reproductive cells/tissues were established, and expression vectors for tagged-dCas9 and epigenetic modification enzymes under the control of the chimeric transcription factor had been constructed. In combination with these systems and various guide RNAs, it would be useful to visualize multiple chromatin regions and manipulate epigenetic information of plant reproductive cells, which leads to reveal importance of epigenetic dynamics during plant reproduction.