

2023 年度 傾斜的研究費（全学分）科研費チャレンジ 研究報告書

【研究費区分】：科研費チャレンジ（B）

【所属】：理学系研究科 生命科学専攻

【氏名】：木下 温子

【氏名フリガナ】：キノシタ アツコ

【職】：助教

【研究課題名】：単子葉植物の胚発生過程における細胞運命決定機構の解明

【研究実績の概要】

・受精卵の第一分裂は、多くの被子植物において最も初期にみられる非対称分裂であり、形態的、機能的に分化した頂端細胞および基部細胞を生じる重要な過程であると考えられている。これまでに、モデル双子葉植物であるシロイヌナズナを用いた解析から、受精卵の発生過程が詳細に解析され、細胞の非対称分裂と運命決定機構が詳細に解析されている。一方で、他の被子植物においては受精卵の極性やその後の細胞系譜については未だ限定的な知見しか得られておらず、特に単子葉植物における初期胚発生機構についてはその大部分が未解明である。本研究課題では、単子葉植物であるイネの胚発生過程や細胞運命決定機構を解析するため、共焦点顕微鏡を用いた 3 次元イメージングとイネ *in vitro* 受精系を用いた遺伝子発現解析を実施した。

【本支援を用いた研究基盤整備の達成状況について】

・イネの胚発生過程の 3 次元的定量解析：胚の透明化と共焦点レーザー顕微鏡観察により、イネ初期胚を 3 次元的にイメージングする手法を開発した。その結果、8 細胞期までの胚について細胞系譜を追跡することに成功した。また、受精卵の第一分裂は胚の表面に対して斜めに分裂面を形成し、その傾きは胚珠の頂端-基部軸や背腹軸に対して一定の方向性を示すことが明らかになった。

・イネ初期胚の可視化に向けた新規レポーターラインの作出：イネ初期胚は細胞壁の合成が不十分であり、細胞壁染色により形態を可視化することが困難である。そこで、初期胚の形態観察を目的として細胞膜を可視化する新規形質転換体 *Ubi::mTurquoise-RCI2A* を作出した。6 つの独立ラインについて観察を行い、いずれも根端および胚珠において細胞膜における蛍光を確認した。現在、卵細胞および初期胚で蛍光を確認するためホモ個体の選抜を行っている。

・2 細胞胚由来の各細胞における発生能の検証：イネ *in vitro* 受精系で得られたイネ 2 細胞胚から細胞サイズ小さい頂端細胞と細胞サイズの大きい基部細胞を分離し、それぞれをフィーダー細胞と共培養・経時観察することで、その発生能を比較検証した。その結果、2 細胞胚期の各細胞はいずれも細胞増殖能を保持しているが、基部細胞は頂端細胞よりも増殖能が高い傾向が観察された。また、4 細胞胚から単離した各細胞も増殖能を維持しており、4 細胞胚由来の 1 細胞が増殖し植物体に再分化する例も観察された。以上の結果から、受精卵における高い増殖能や発生運命の可塑性は 4 細胞期の細胞でも維持されていることが示唆された。

【外部資金への応募状況】

- ・科学研究費助成事業 学術変革領域研究 (B) 応募 (計画班代表) 採択 (R6-R8 年度、31,460 千円)
- ・科学研究費補助金 基盤研究(C) 応募 (研究代表者) 採択 (R6-R8 年度、4,680 千円)

【研究分担額】

(研究代表者・分担者名,所属,金額 (円))

研究代表者：木下温子

所属：理学研究科生命科学専攻

金額：1,000 千円