

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	植物におけるエピゲノムを介した優劣性発現制御機構の解明
研究機関・ 部局・職名	茨城大学・理学部・准教授
氏名	柴 博史

### 1. 当該年度の研究目的

有性生殖によって生み出される子孫は、両親の持つ性質のいずれか一方のみを受け継ぐ場合が知られている。メンデルの「優性の法則」として知られる遺伝現象であるが、そのメカニズムは不明な点が多い。本研究では、対立遺伝子間の優劣に関わる新規ゲノムメチル化が、植物の他のアレル間の優劣性現象にも広く関与している可能性を考え、シロイヌナズナ種内雑種( $F_1$  雑種)を例にして、最新のゲノム解析技術を駆使して上記現象の網羅的探索を行う。

平成 25 年度は、トランス作用性の低分子 RNA により調節されていると予想される優劣発現を示す遺伝子候補について優劣発現の有無を確認するとともに、DNA メチル化パターンの違いと片側対立遺伝子発現制御との関係を明らかにする。また前年度までに明らかにした  $F_1$  雑種形成時に特異的な発現亢進が見られた noncoding RNA について形質転換体の作出による機能解析を行い、雑種強勢との関係を明らかにするとともに、育種への応用を提案する。

### 2. 研究の実施状況

*A. thaliana* 2系統間の SNP を利用して、 $F_1$  雑種およびその親系統のシーケンスデータをマッピングすることで見出した優性発現遺伝子候補について、実生 RNA を用いた定量 PCR を行い確認した。標的配列内に SNP 部位が含まれるように設計したプライマーを用いて、定量性を保つよう PCR を行い、得られた PCR 産物をサブクローニングした後、複数コロニーをシーケンスした。シーケンスデータ中の SNP を使って  $F_1$  雑種およびその親系統におけるアレル毎の発現量を調べたところ、両親では同等に発現しているが、 $F_1$  雑種では優劣発現を示す遺伝子を複数確認できた。また  $F_1$  雑種形成時に特異的な発現亢進が見られた 10 個の noncoding RNA についても定量 PCR を行いその発現パターンを確認した上で、当該ゲノム配列を強力で構成的な発現を示すプロモーターの下流に繋げたコンストラクトを作成した。そして当該コンストラクトを親系統に形質導入してその表現型を観察した。現在、3 個の noncoding RNA に関して形質導入株の評価が終わり、そのうちの 1 つに関しては、ロゼット葉の増大や葉数の増加など、雑種強勢で見られるような形質が観察された。現在、残りの noncoding RNA についても形質転換体の表現型を明らかにするとともに、雑種強勢様の形質が見られた noncoding RNA について、その発現制御メカニズムの解明に取り組んでいる。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 2 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 1 件 Takada, Y., Sato, T., Suzuki, G., Shiba, H., Takayama, S., and Watanabe, M., Involvement of MLPK Pathway in Intraspecies Unilateral Incompatibility Regulated by a Single Locus with Stigma and Pollen Factors, <i>Genes Genomes Genetics</i>, 3, 719–726, 2013. (掲載済み一査読無し) 計 1 件 前川 雅彦, 金澤 章, 堤 伸浩, 木下 哲, 土生 芳樹, 柴 博史, 江面 浩, エピミュータジェネシスと次世代育種への展開, <i>育種学研究</i> 15, 42–50, 2013.</p>
<p>会議発表 計 5 件</p>	<p>専門家向け 計 5 件 1. 柴 博史, 三浦 栄子, 樽谷 芳明, 磯貝 彰, 高山 誠司, 植物におけるエピゲノムを介した優劣性発現制御機構の解明, 日本農芸化学会第2回関東支部例会, 土浦, 2013/2/9 2. 柴 博史, エピゲノムを介した対立遺伝子間の優劣性発現制御機構, 平成 24 年度茨城大学遺伝子実験施設公開シンポジウム「エピジェネクス研究最前線」, 土浦, 2013/03/11 3. 柴 博史, エピゲノムを介した対立遺伝子間の優劣性発現制御機構の解明, 筑波大学セミナー, つくば, 2013/7/18,19 4. 柴 博史, オミクス解析で明らかとなってきた種内雑種特異的な遺伝子発現制御の実体, 明治大学・科学技術研究所シンポジウム「大規模オミクス情報解析がもたらす生命科学の新たな展開」, 生田, 2013/9/2 5. Shiba, H. Nakagawara, M., Hino, S., Katsura, N., Yokoyama, K., Igarashi, K., Fujihashi, D., Horiuchi, E., Suzuki, Y., Yano, K., Isogai, A., Takayama, S., Whole genome analysis for identification of gene expression changes in two <i>Arabidopsis</i> accessions and their reciprocal hybrids, International symposium on diversifying biological resources ~Toward food security and sustainable society~, Tsukuba, 2013/11/20  一般向け 計 0 件</p>
<p>図 書 計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件  (出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>該当なし</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>標題:SSH 支援事業の一環としての水戸第二高等学校生徒への実習指導、実施日:2013 年 4 月 20 日、24 日、5 月 8 日、13~17 日、24 日、30 日、6 月 13 日、実施場所:茨城大学理学部、対象者:水戸第二高等学校生徒および指導教員、参加者数 計 5 名、内容:課題研究(アブラナ科植物の発芽率と初期の生長量)遂行へのアドバイス、学内施設を利用した実験のサポート、研究報告書作成の指導等</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 0 件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	94,000,000	67,468,000	26,532,000	0	0
間接経費	28,200,000	20,240,400	7,959,600	0	0
合計	122,200,000	87,708,400	34,491,600	0	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	1,956,187	26,532,000	0	28,488,187	28,474,931	13,256	0
間接経費	0	7,959,600	0	7,959,600	7,959,600	0	0
合計	1,956,187	34,491,600	0	36,447,787	36,434,531	13,256	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	22,120,797	遺伝子解析装置、植物栽培装置、実験試薬等
旅費	122,020	学会・セミナー参加、研究打ち合わせ等
謝金・人件費等	2,016,134	科研費研究員人件費、セミナー講師謝金
その他	4,215,980	解析依頼、実験機器修理費用、建物利用料
直接経費計	28,474,931	
間接経費計	7,959,600	
合計	36,434,531	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
微量高速遠心機 一式	MX-307,アングルロー ダー	1	973,717	973,717	2013.10.7	茨城大学
Veriti 96-Well サー マルサイクラ	Veriti200 0.2mL	1	926,100	926,100	2013.10.8	茨城大学
ソフトウェア	CLC GENOMICS WORKBENCH 1 ネットワーク永久ライセ ンスF-CLC-GWN	1	1,932,000	1,932,000	2013.11.13	茨城大学
顕微鏡デジタルカメ ラセット 一式	DP73、光源システム U-HGLGPS,GFP 用ミラーユニット U-MGFPHQ,YFP 用ミラーユニット、テー ブルトップ型暗室	1	2,609,250	2,609,250	2013.11.25	茨城大学
デジタルマイクروسコー プ一式	VHX- 700FSP1479,VHX -1020,VH- Z20W,VHX-S90F	1	4,998,000	4,998,000	2013.12.9	茨城大学

ハイシエーカー 一式	BR-43FL・ MR,STB-6070	1	955,185	955,185	2013.12.20	茨城大学
ヒコビレットコントローラー 一式	I-CONTHR- 03,MCF100	1	1,695,855	1,695,855	2014.1.24	茨城大学