



## (0) 研究分野

分科会: 生物

キーワード: 生殖、Non-coding RNA、クロマチンダイナミクス、イメージング、作物(イネ)、

## (1) 研究背景と研究目標

イネをはじめとした多くの作物は、種子を利用することから、生殖のコントロールは、収量増産や安定供給に大きく寄与する。現在までに、生殖ステージに特異的に発現する771種の長鎖 non-coding RNA群とそこから由来する膨大な種類のsmall RNAを同定している。当研究室では、これら多種多様なnon-coding RNA群とその作動因子に着目し、生殖特性・機能解明による植物の統合的な生殖システムの理解を目指す。高等生物に共通する「非コードゲノム領域の存在意義」とはなにかといった命題のもと、細胞内・細胞間・世代間の情報伝達機構、及び、環境に適応したnon-coding RNA群の多様性から生み出される植物の生殖戦略の解明を試みる。

さらに、機能性RNAを組み合わせ、世界各地のさまざまな環境下で安定した食料供給を可能にする生殖強化プロジェクトを展開する。

## (2) 2024年度成果と今後の研究計画

2024年10月より、理化学研究所 横浜キャンパスにて、生殖システム理研ECL研究チームを立ち上げた。

### (A-1) モバイル因子を介した生殖組織の細胞間・細胞内ダイナミクス

現在までに、三種類のArgonaute タンパク質 (AGO) とsmall RNAによる雄しべの空間制御システム、および、これらsmall RNAを体細胞層, Somaから生殖細胞, Germ に運ぶ「モバイルAGO」を世界にさきがけて同定している (図1)。

これらモバイルAGO-small RNAの複合体と相互作用する四種類の作動因子, Mobile AGO Interactor, MAI-I, MAI-II, MAI-III, MAI-IVを同定した。ゲノム編集によりMAI-IとMAI-IIの変異イネを作成し、稔実など生殖への影響を評価した。

さらに、熊本大学 (現 千葉大学) の石黒 啓一郎氏との共同研究により、MAI-I, MAI-II, MAI-IIIの抗体を作成し、細胞内の局在を解析した。

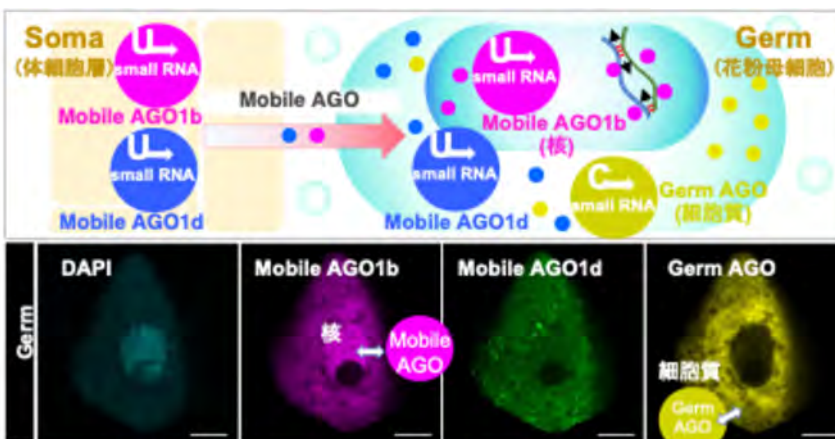


図1. 三種のRNAサイレンシング経路と雄しべの空間制御.

### (A-2) 雄しべを用いたライブイメージングの技術開発

モバイルAGOとその作動因子の細胞間移動を撮像するライブイメージングを樹立するため、生殖特異的にGFPを発現したイネの雄しべを用いて、ゲル包埋法によるGerm GFPの可視化を試みた。また、光刺激変換タンパク質を用いた植物体の準備を進め、Some-to Germコミュニケーション操作の基盤となる技術の開発を試みた。

### (A-3) クロマチン制御が織りなす長鎖non-coding RNAの転写メカニズム

モバイルAGOタンパク質は、生殖組織内の核内で、核内構造体を形成する。このことから、モバイルAGOの核内での新しい機能が示唆された (図1下: Mobile AGO1bの細胞内局在)。

そこで、下記の解析を融合したマルチオミックス解析を行なった。

1. クロマチン免疫沈降によるモバイルAGOの結合ゲノム領域の特定
2. DNAメチローム解析
3. トランスクリプトーム解析
4. モバイルAGOに結合するsmall RNAの同定

### 今後の計画

1. 雄しべライブライメーキングの樹立、2. 細胞間コミュニケーションを引き起こす作動因子の分子機能解明、3. モバイルAGOの標的因子同定とRNA制御、4. 核内構造体と核内ダイナミクス研究を進め、イメージング技術、細胞間移動、細胞内機能を統合し、モバイルシグナルを介した生殖情報伝達機構を解明する。

### (B-1) 無性・有性生殖転換の分子メカニズム

生殖は体細胞分裂による「無性生殖/栄養繁殖」と減数分裂と受精を経た「有性生殖/種子繁殖」に二分される。栄養繁殖性は、野生イネにみられる強い形質で、栄養繁殖と種子繁殖の使い分けは、複雑に変動する環境条件下で子孫を残す極めて有効な生殖手段である。しかし、これら生殖様式転換の分子機構は明らかとなっていない。

プロモドメインをコードするクロマチンレギュレーター、**Histone Methylation Binding Protein (HMB)**の変異イネは、コントロール区では種子繁殖を示したのに対し、厳しい条件区では栄養繁殖性が見られた。以上のことから、環境に応答したHMBによる有性生殖-無性生殖転換の制御を担うことが示唆された。

有性・無性生殖の転換を制御する分裂組織に着目し、理化学研究所IMS 今見考志氏との共同研究によりプロテオーム解析を行った。small RNA解析を並行して行い、生殖様式転換で制御されるsmall RNAとその標的因子の探索を行った。また、農研機構、横井彩子氏と共同研究にて、タグノックイン個体の作成を進めた。

### 今後の計画

HMBはプロモドメインをコードすることから、分裂組織を用いたクロマチン免疫沈降(ChIP)シーケンスによる、標的因子の網羅的な解析を行う。また、栄養繁殖性を示す野生イネと種子繁殖性を示す栽培イネを用いた比較ゲノム解析を行い、環境感応型生殖様式転換の分子機構を世界にさきがけて解明する。

### (3) 研究室メンバー

(理研ECLチームリーダー)

小宮 怜奈

(テクニカルスタッフII)

小野 美里

土田 博子

(2024年度)

(特別研究員)

Zein Eddin Bader

### (4) 発表論文等

1. **小宮怜奈** 誰でも再現できるNGS「前」サンプル調整プロトコール. **用土社**. 389-398 (2024)
2. **Komiyama, R.** Nuclear Dynamics via RNA Silencing in Rice Reproduction. The 34<sup>th</sup> International Conference on Arabidopsis Research (July 15-19, 2024, Symposium invitation)
3. **Komiyama, R.** Reproductive Non-coding RNA System in Rice. Tokyo RNA Club (November 6, 2024, Invitation)
4. **Komiyama, R.** Reproductive Non-coding RNA System in Rice. Plant Science Symposium 2024 (December 9, 2024, Symposium invitation)
5. **Komiyama, R.** Photoperiod-dependent Regulation of Sexual and Asexual Reproduction in Rice. Sexual Reproduction Symposium (March 6-8, 2025, Symposium invitation)