

## 平成23年度学融合推進センター学融合研究事業 成果報告書

研究テーマ名称	共生応答におけるカルシウムイオン動態のイメージング解析
応募事業区分	若手研究者研究支援事業
申請代表者氏名	武田 直也

## ○ 研究状況報告

本研究では植物-微生物相互作用である根粒共生、菌根共生時に誘導される宿主細胞内でのカルシウム (Ca) イオン濃度の周期的な増減; Ca スパイキングの解析を行った。この解析に用いる新たなツールの開発やトランスクリプトーム解析による初期の共生シグナル伝達経路のマーカーとなる遺伝子の探索を行い、共生シグナルとしての細胞内 Ca イオン変動とその応答による遺伝子発現の相関を知ることを目指した。Ca スパイキング解析に有効なツールの開発として、Ca 感受性の異なる指示タンパク質発現系の構築、人工的な Ca イオン流入の誘起法の発見と利用、根に限定した遺伝子導入技術による迅速な Ca イメージング法の確立を行った。また、マーカー遺伝子の探索として次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を行っている。これらのツール開発のいくつかは完了し、共生変異体の解析などに役立てることができている。

## ○ 当該事業年度において達成された研究成果

新たな Ca イメージング手法として、Ca イオン濃度に対する感受性の異なる Ca イオン指示蛍光タンパク質 Yellow cameleon (YC) nano 15, 30, 50 および YC360 を植物用ベクターへ改変し、植物体への導入を行った。ここで、これまでは植物体への遺伝子導入には1年以上かかっていたが、一過的な形質転換法である毛状根形質転換により、数週間で解析可能な個体を取得するとに成功し、迅速な Ca イオン応答の解析が可能となった。また、バックグラウンドの蛍光を低減させ、より感度よく Ca スパイキングを検出するため、核局在シグナル(NLS)を融合させた YC260-NLS, YC360-NLS を構築した。これらを用いて、当研究室で同定された数種の共生変異体にたいして Ca スパイキング応答能の解析を行った。また、植物に存在する Blue light response Ca ion channel の作用を利用し、Ca イオンの流入を人工的に誘導する技術として、青色光を照射することで一過的な Ca イオン濃度の上昇を誘導することに成功した。この人工的な Ca イオン流入による植物体の応答反応に対する解析に乗り出している。

今後は新たなツールとトランスクリプトーム解析によって得られる共生応答遺伝子を用いて、共生シグナルに対する遺伝子発現応答との相関についての解析を進め、これらの成果をまとめた論文投稿を平成24年度内に行う予定である。

## ○ 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名等のリスト (論文があれば添付)

なし