

植物倍数性ならびに細胞分化が クロマチン構造と染色体配置に与える効果

釋水遥夏¹, 高田英昭², Eva Hřibová³, 近江戸伸子¹

1神戸大学人間発達環境学研究科
2産総研・モレキュラーバイオシステム研究部門
3 Institute of Experimental Botany・チェコ

Research Objectives

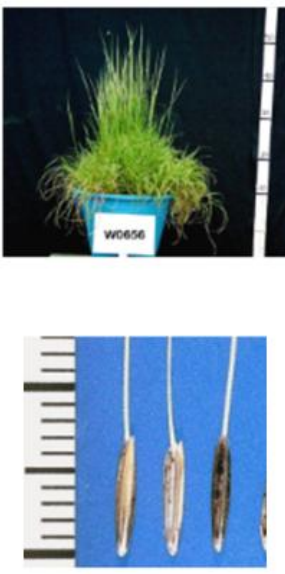
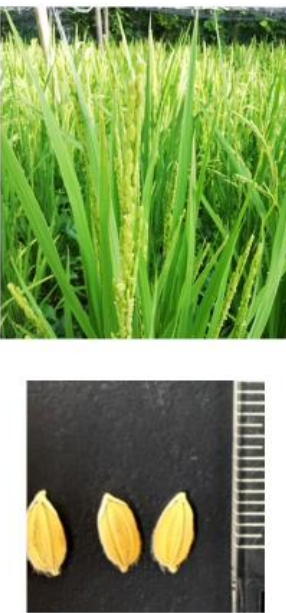
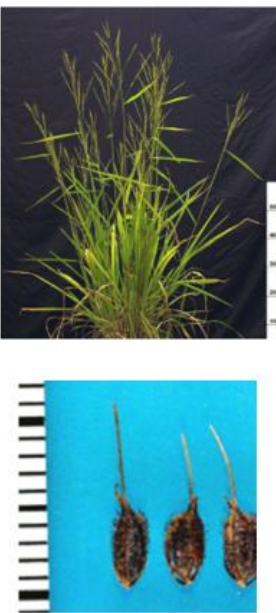
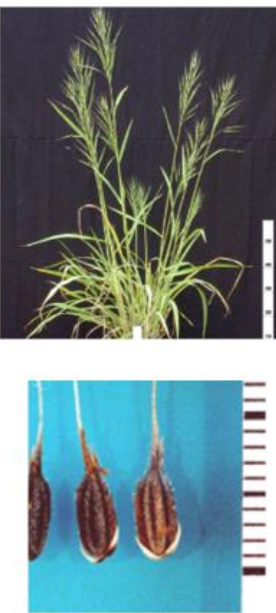
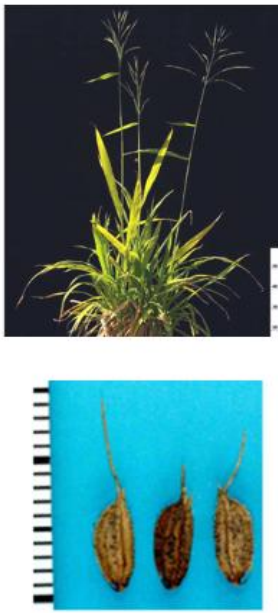

- 栽培イネおよび野生イネを対象に、セントロメアとテロメアの核内配置を比較する。
- ゲノムサイズや倍数性の違いが、染色体配置や核構造に与える影響を明らかにする。
- 動原体の核内分布を解析し、種間差や核サイズとの関連を評価する。

Introduction

- 真核生物の細胞核では、染色体が一定の空間領域 (**chromosome territory** : CT) に配置されており、遺伝子発現や細胞分化に影響する。動原体・テロメアの核内配置やRabl構造は、核構造やゲノム安定性に関連すると示唆されている。
- イネでは、分裂・分化組織でクロマチン凝縮やCTの融合・分離傾向が異なるなど組織特異的な核構造が示されており、同研究では分化細胞で典型的なRabl構造も観察されている (Doležalová *et al.*, 2024)。
- 一方で、植物における核内配置の解析はまだ限られており、ゲノムサイズや倍数性、細胞状態の違いが染色体配置に与える影響は十分に明らかになっていない。

Plant Materials

Table1. Plant materials: species, genome formula, and genome size

Spices	<i>O. brachyantha</i>	<i>O. sativa</i>	<i>O. officinalis</i>	<i>O. australiensis</i>	<i>O. alta</i>	<i>O. latifolia</i>
Genome Formula	FF	AA	CC	EE	CCDD	CCDD
Genome size Mb/1C	346	438	697	946	919	1051
						

<https://shigen.nig.ac.jp/>

Results and Discussion

1. PCR解析による動原体リピート配列の検出

● RCS2

O. sativa(AA)、*O. latifolia*,*O. alta*(CCDD)、*O. australiensis*(EE)で検出されたが、*O. officinalis*(CC)および*O. brachyantha*(FF)では検出されなかった(Table2, Figure1A)。種間で違いがあり、動原体リピート配列の進化的変化が示唆された。また、異質倍数性において、DゲノムはAゲノムと類似し、保持された可能性がある。

Table2. PCR amplification results of the centromeric repeat RCS2 in Oryza species

Accession No	Nipponbare	W1174	W2086	W2104	W0655	W2044	W0656	W1200
species	<i>O. sativa</i>	<i>O. latifolia</i>	<i>O. australiensis</i>	<i>O. australiensis</i>	<i>O. brachyantha</i>	<i>O. alta</i>	<i>O. brachyantha</i>	<i>O. officinalis</i>
PCR Amplification	+	+(ladder)	+(ladder)	+(ladder)	-	+	-	-
Genome formula	AA	CCDD	EE	EE	FF	CCDD	FF	CC
Centromere type	RCS2	CentO-C1	CRR Retrotransposon	CRR Retrotransposon	CentO-F	CentO-C1	CentO-F	CentO-C1

● CentO-C1

CCDDおよびCCで特異的に検出され、AAおよびFFでは検出されなかった(Table3, Figure1B)。Cゲノムに由来する系統で保存されている可能性があり、ゲノム型依存的な分布を示した。

Table3. PCR amplification results of the centromeric repeat CentO-C1 in Oryza species

Accession No	Nipponbare	W1174	W2086	W2104	W0655	W2044	W0656	W1200
species	<i>O. sativa</i>	<i>O. latifolia</i>	<i>O. australiensis</i>	<i>O. australiensis</i>	<i>O. brachyantha</i>	<i>O. alta</i>	<i>O. brachyantha</i>	<i>O. officinalis</i>
PCR Amplification	-	+	+(weak)	+(weak)	-	+	-	+
Genome formula	AA	CCDD	EE	EE	FF	CCDD	FF	CC
Centromere type	RCS2	CentO-C1	CRR Retrotransposon	CRR Retrotransposon	CentO-F	CentO-C1	CentO-F	CentO-C1

2. 2D- FISHによる動原体(RCS2)とテロメアの核内分布

Nipponbare では RCS2 シグナルが核全体に分散したのに対し、*O. alta* では核周辺に偏在した。シグナル数自体は両種間で差がなく、t 検定でも有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。RCS2 シグナルは D ゲノム由来の動原体配列と考えられ、倍数化やゲノム構成の違いが核内配置に影響している可能性が示唆される。*O. alta* や *O. australiensis* では、セントロメアが周辺、テロメアが内部に位置する配置が観察され、Rabl構造の可能性も示唆された。

O. brachyantha ではセントロメアは検出されず、テロメアは弱く核全体に散在し、*O. latifolia* では両者とも核周辺に集中した。これらの結果は、種ごとのゲノム構成や倍数性が核内染色体配置の多様性に関与していることを示している。

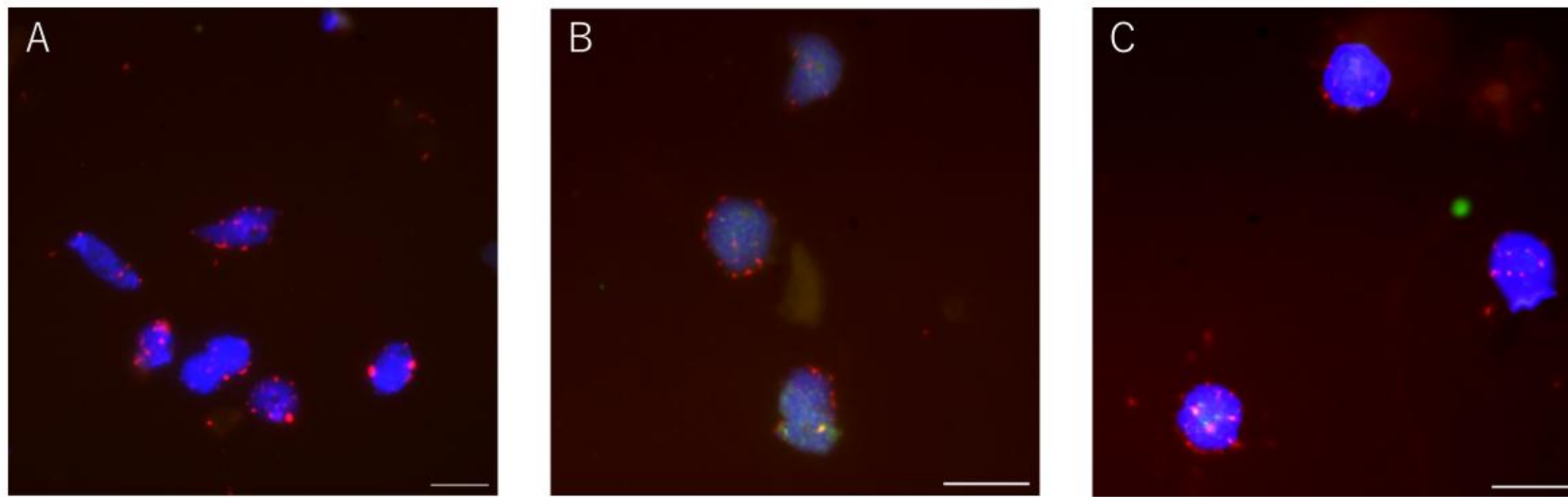


Figure 3. Localization of RCS2 and telomeres in Nipponbare and wild rice species revealed by FISH.A: *O. sativa* cv. Nipponbare B: tetraploid *O. alta* C: *O. australiensis*. Scale bar = 10 μ m.

3. 3D-FISH

Nipponbareの根伸長領域において、共焦点レーザー顕微鏡 (Leica STELLARIS8) を用いた3D-FISH解析を実施した。RCS2シグナルは伸長組織の核で核周辺に偏在する傾向が観察され、分裂組織の核ではRCS2シグナルが核内に散在していた (Figure 4)。DAPI染色では核内部が十分に可視化されず、伸長組織の表層細胞では細胞壁や細胞質によるプローブ侵入の制限が示唆された。これらは、観察されたRCS2の分布が実際の核内配置を反映していない可能性を示しており、今後はプローブ侵入や細胞処理の改善を行う予定である。

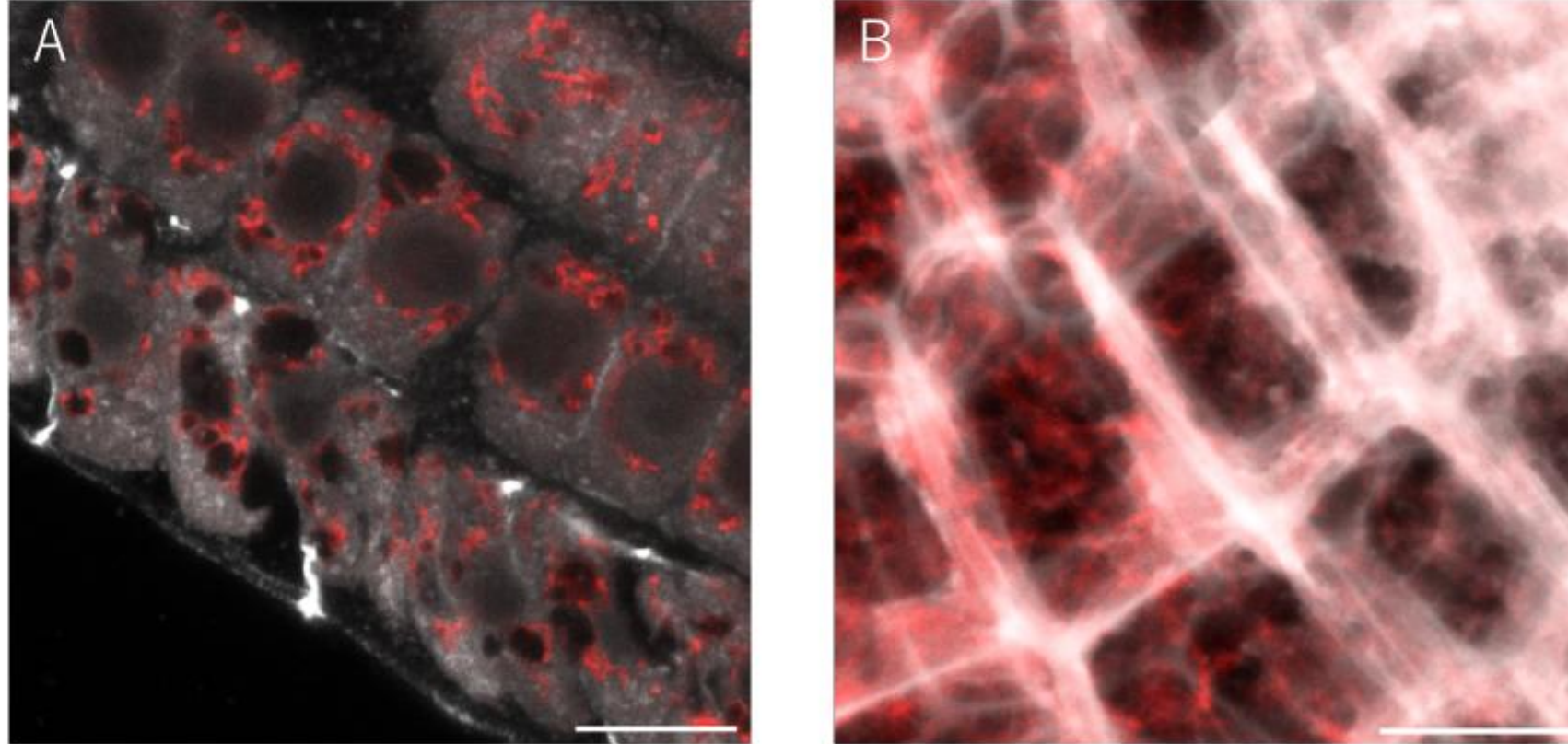


Figure 4. 3D-FISH analysis of RCS2 in elongating root cells of Nipponbare. Scale bar = 10 μ m. A:Elongation zone B:Meristematic zone

Conclusion

動原体特異的反復配列の分布は、ゲノムサイズや倍数性に応じて種間で明確に異なる特徴を示した。またイネ科の異なるゲノムでも反復配列も異なっていた。これらの結果は、反復配列および染色体構造がイネ属における核構造の多様性形成に寄与していることを示唆する。また、同一のイネ属内で、ゲノムサイズや倍数性に基づくRabl構造形成メカニズムの理解に新たな知見を提供する。