

## 遺伝子発現制御を高感度で検出する新手法を開発 ～透明にした植物内部でそのまま観察することが可能に～

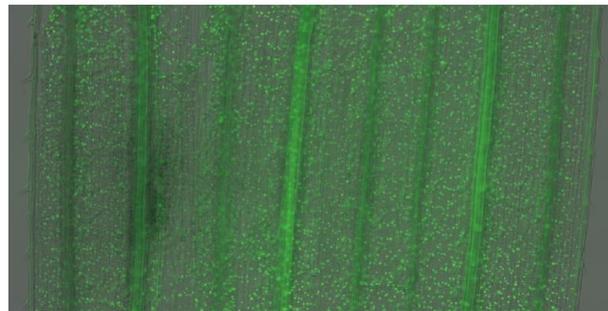
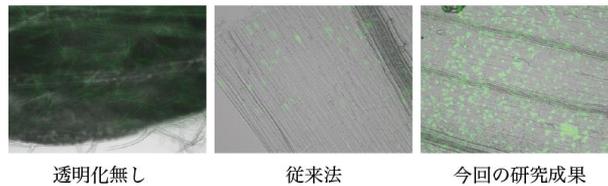
### 【本研究のポイント】

- 細胞組織内で遺伝子発現制御を観察することは非常に困難だった。
- 植物を丸ごと透明化する ClearSee 法を改良した「ePro-ClearSee 法」を開発。透明化した植物組織内での遺伝子発現制御を可視化することに成功した。
- タンパク質の局在解析に利用され、植物の遺伝子発現制御ネットワークの解明が期待される。

1 つの個体は、同じゲノム DNA を持ちながらも、根や葉などのさまざまな異なる器官や組織へと分化します。それを可能にしているのが、DNA やヒストン<sup>[1]</sup>に“目印”として化学的変化（エピジェネティック修飾<sup>[2]</sup>）を引き起こし、必要な遺伝子のオン/オフの切り換え（遺伝子発現制御<sup>[3]</sup>）を行う仕組みです。

岡山大学資源植物科学研究所の長岐清孝准教授、山地直樹准教授と村田稔教授は、植物組織を透明化する ClearSee 法<sup>[4]</sup>を改良。エピジェネティック修飾を検出する抗体の浸透効率を向上させ、遺伝子発現制御を高感度で検出する「ePro-ClearSee 法」を世界で初めて開発しました。本研究成果は 2 月 8 日（英国時間午前 10 時）、英国の科学雑誌「*Scientific Reports*」に掲載されました。

本研究成果により、組織や個体レベルでの遺伝子発現制御機構の解明に貢献することが期待されます。



今回の研究成果により染められたコムギの葉の全体像

図：透明化した植物内の遺伝子発現制御のシグナルを可視化することに成功



## PRESS RELEASE

### <背景>

根や葉など器官は、形や性質は異なりますが同じゲノム DNA を持っています。植物の細胞は、さまざまな環境の変化に対応して、個別に遺伝子をオン/オフ（遺伝子発現制御）することで、必要な形質を獲得しています。

遺伝子発現は、DNA やヒストンなどに“目印”として、メチル化やアセチル化などの化学的変化（エピジェネティック修飾）が起きることによって制御されています。エピジェネティック修飾を解析する一般的な方法は、細胞をすり潰したり、バラバラにする必要があるため、組織内のどの場所で遺伝子が発現しているかを知ることはできませんでした。

2015 年、植物を丸ごと透明化し、観察する「ClearSee 法」が開発されました。さらに、透明化後に抗体を用いて組織内のタンパク質を検出する方法がいくつか考案されました。しかし、これらの抗体による染色方法は、検出感度が低く、さらに長期の処理時間（7～9 週間）を要するといった問題があり、透明化した植物内でエピジェネティック修飾を観察することはできていませんでした。

エピジェネティック修飾の位置情報を知ることは、個々の細胞が受けている異なる遺伝子制御や組織内ネットワークを探る上で、不可欠な情報です。本研究グループは、ClearSee 法を改良し、抗体の細胞内への浸透効率を向上させた高感度抗体染色法の開発に取り組みました。

### <本研究の成果>

本研究では、ClearSee 法に酵素処理による細胞壁の部分除去、プロパノールによる細胞膜の部分破壊のステップを加えることによって、組織内への抗体の浸透効率を向上させた「ePro-ClearSee 法」を開発しました。ePro-ClearSee 法では、実験に用いた単子葉植物 5 種および双子葉植物 4 種全てで、透明化後の葉組織内でエピジェネティック修飾を観察できました。処理にかかる時間も 10 日～3 週間程度と大幅に短くなっています。

### <期待される効果>

ePro-ClearSee 法は、多くの植物種で利用可能であり、この方法がさまざまな植物の遺伝子発現制御ネットワークの解析やタンパク質の局在解析に利用されることが期待されます。



## PRESS RELEASE

### <論文情報等>

論文名 : ePro-ClearSee: a simple immunohistochemical method that does not require sectioning of plant samples  
掲載誌名 : *Scientific Reports*  
著者 : Kiyotaka Nagaki, Naoki Yamaji, Minoru Murata  
DOI : 10.1038/srep42203  
<http://www.nature.com/articles/srep42203>

### <お問い合わせ>

岡山大学資源植物科学研究所  
准教授 長岐清孝  
(電話番号) 086-434-1208  
(FAX番号) 086-434-1208

### <用語説明>

#### 【1】ヒストン :

ゲノム DNA が折り畳まれる際に巻き付くタンパク質。ヒストンの DNA の巻き取りに関連しない部分には遺伝子のオン/オフを制御する目印が付く。

#### 【2】エピジェネティック修飾 :

エピジェネティック修飾は、「エピ=後生の」+「ジェネティック=遺伝的な」修飾を意味している。ゲノム DNA 内の個々の遺伝子のオン/オフは、DNA や DNA と結合しているヒストンタンパク質が目的に応じて修飾されることにより制御されている。この修飾による制御により、同じゲノム DNA から違った器官および組織が形成される。また、環境ストレス等に応答する際も組織内の個々の細胞が目的ごとに異なった遺伝子制御を行っていると考えられている。

#### 【3】遺伝子発現制御 :

個々の遺伝子を必要に応じてオン/オフするシステム。個々の遺伝子周辺のエピジェネティック修飾の変更により、遺伝子のオン/オフを調整する。

#### 【4】Clear See 法 :

栗原等によって 2015 年に開発された蛍光タンパク質へのダメージ無く植物組織を透明化する方法。GFP を含む蛍光タンパク質の観察に特化した方法で、組織への抗体の浸透性は低い。