

Fig. 3-1 核タンパク質および細胞質タンパク質の調製

HGB : High glycerol buffer

LGB : Low glycerol buffer

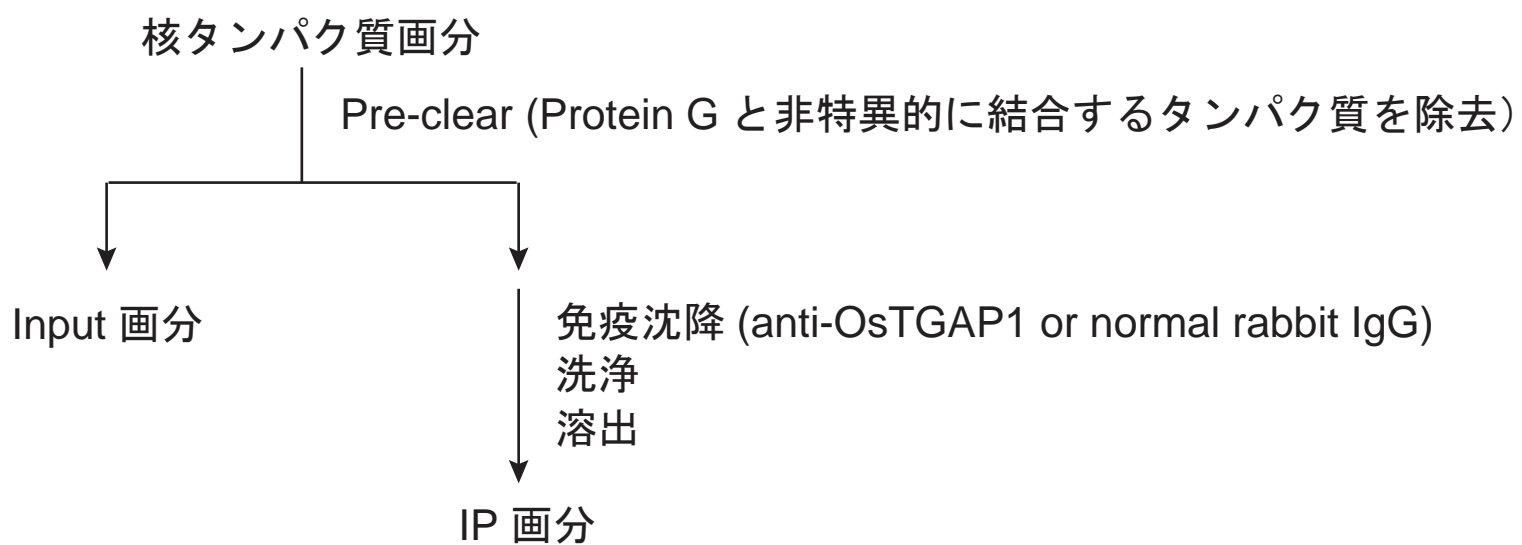


Fig. 3-2 免疫沈降実験の概要

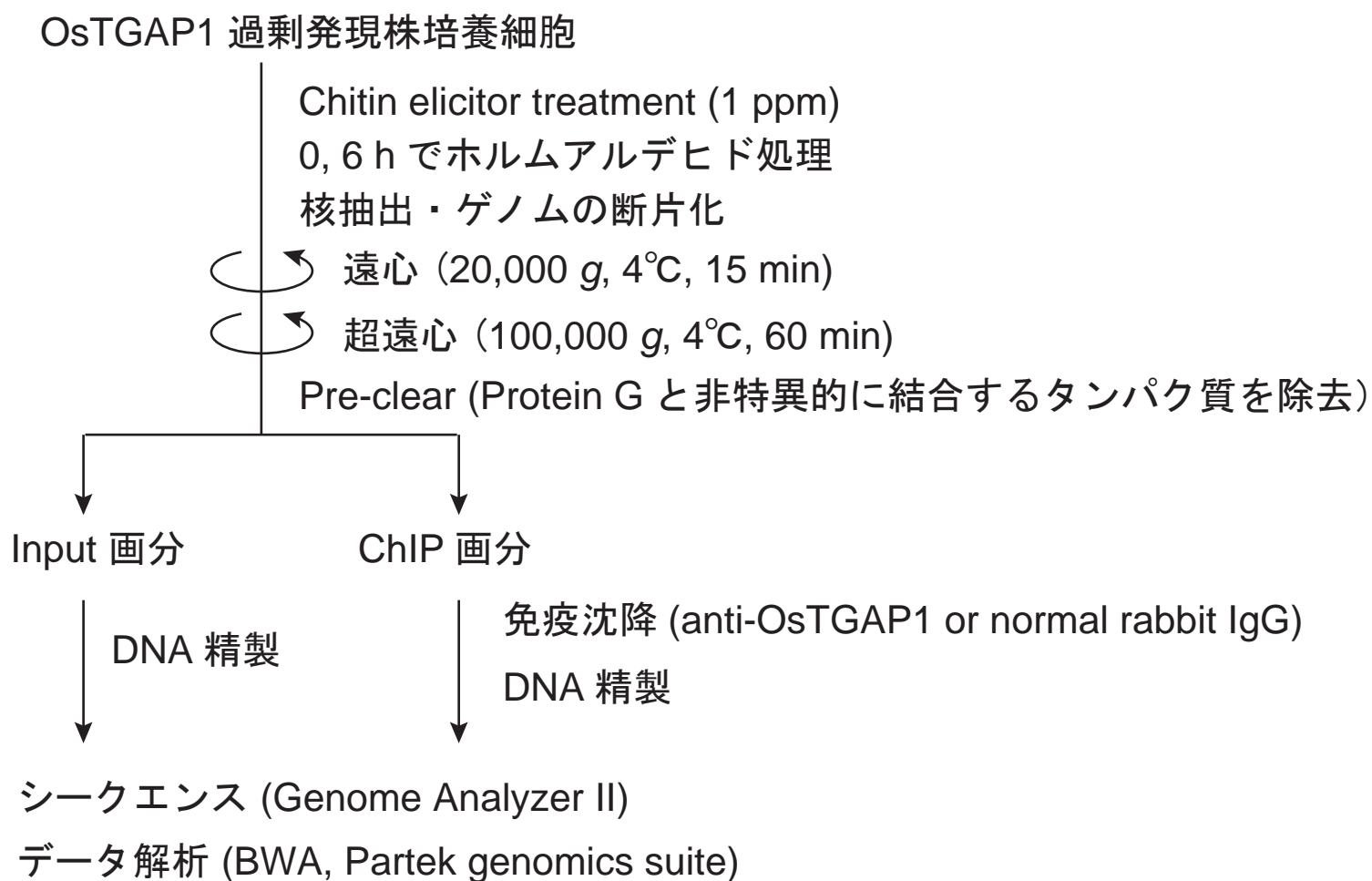


Fig. 3-3 ChIP-seq 解析の概要

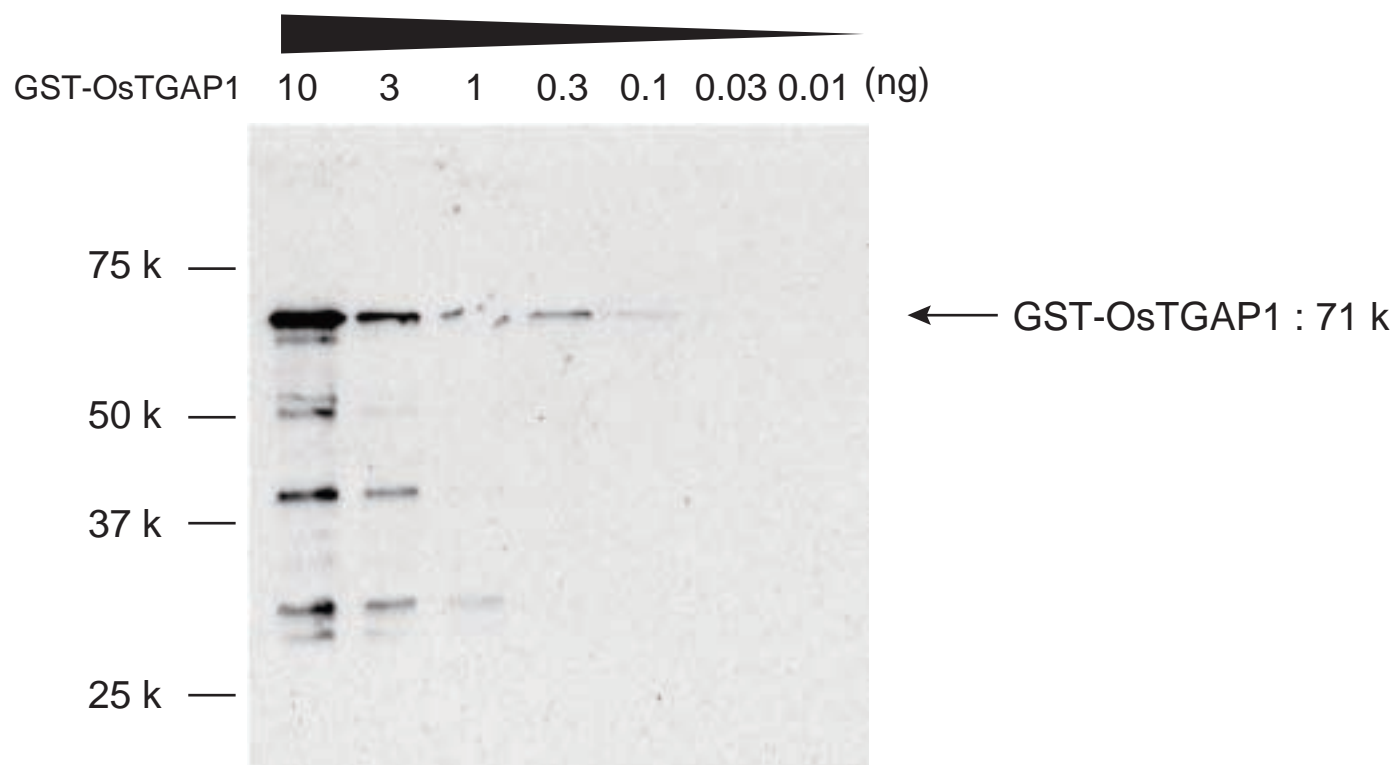


Fig. 3-4 抗 OsTGAP1 抗体による GST-OsTGAP1 の検出
8% アクリルアミドを含む SDS-PAGE ゲルで泳動し、
その後抗 OsTGAP1 抗体によるウェスタン解析を行った。

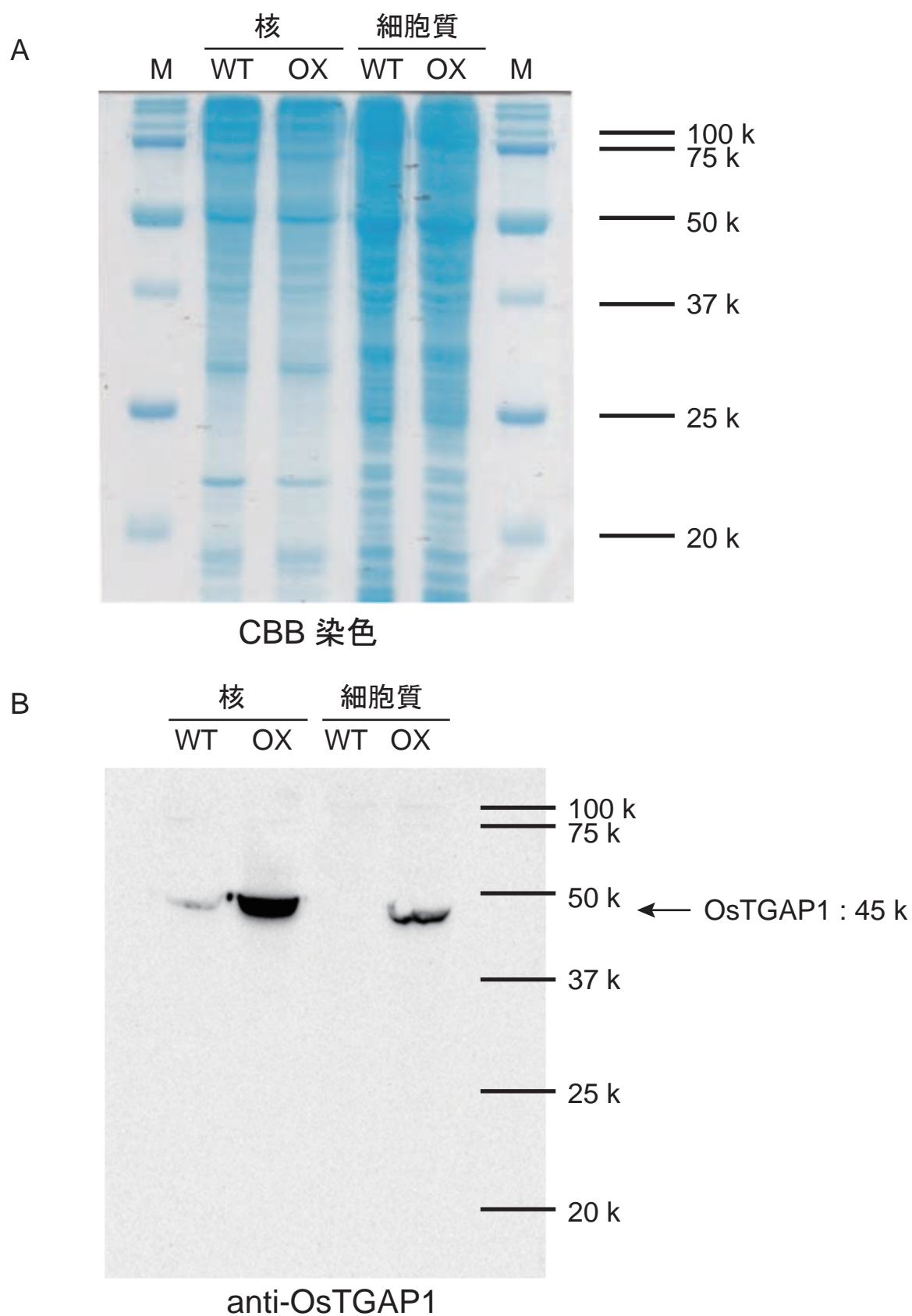


Fig. 3-5 イネ由来のタンパク質を用いた抗 OsTGAP1 抗体による OsTGAP1 の検出
 12% アクリルアミドを含む SDS-PAGE ゲルで泳動し、
 その後 CBB 染色 (A) と抗 OsTGAP1 抗体 (B) によるウェスタン解析を行った。
 WT : 野生型株
 OX : OsTGAP1 過剰発現株
 M : Marker

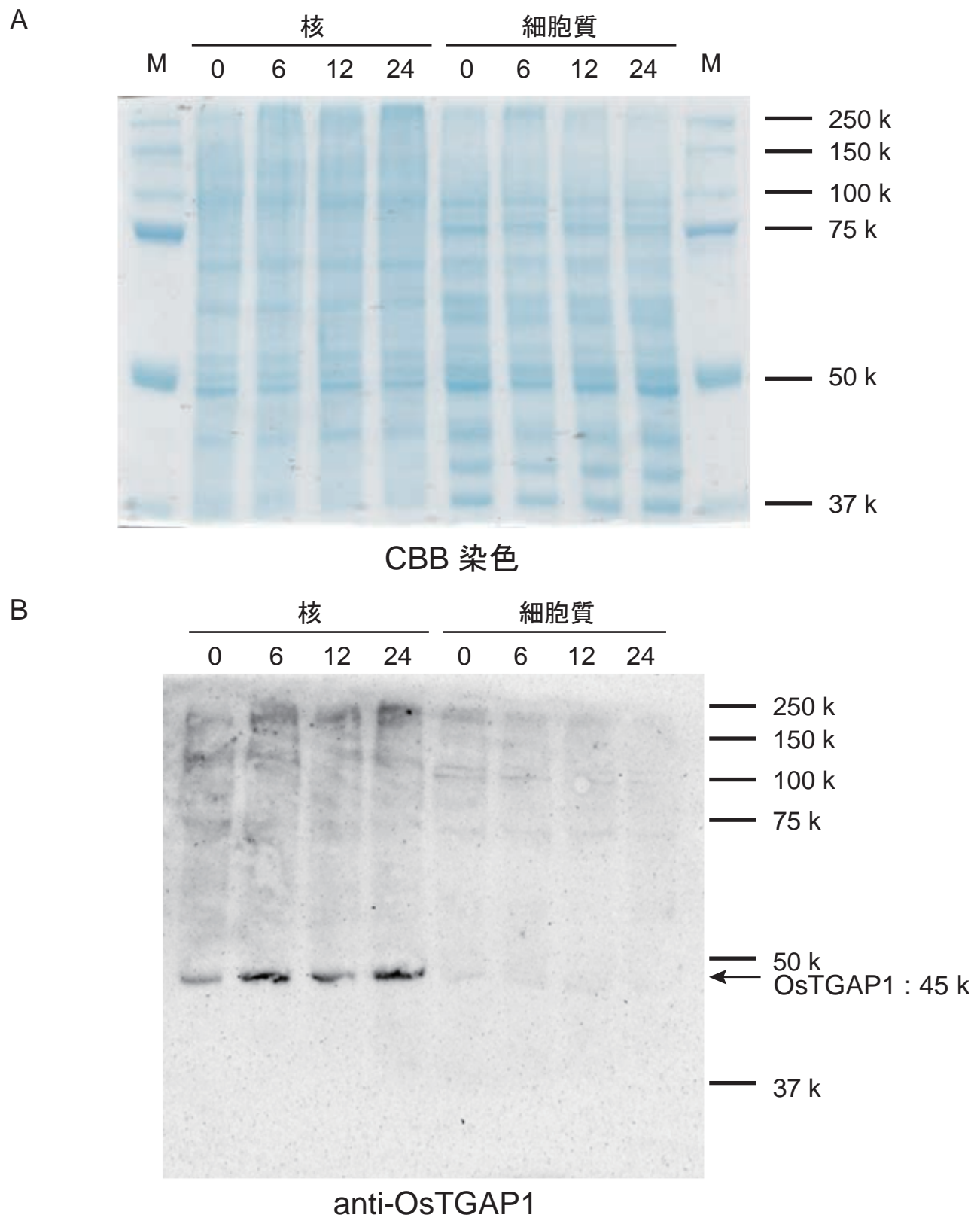


Fig. 3-6 野生型におけるエリシター処理後の OsTGAP1 の発現量の変化
 8% アクリルアミドを含む SDS-PAGE ゲルで泳動し、
 その後 CBB 染色 (A) と抗 OsTGAP1 抗体 (B) による
 ウェスタン解析を行った。
 図中の数字はエリシター処理後時間 (h) を表す。
 M : Marker

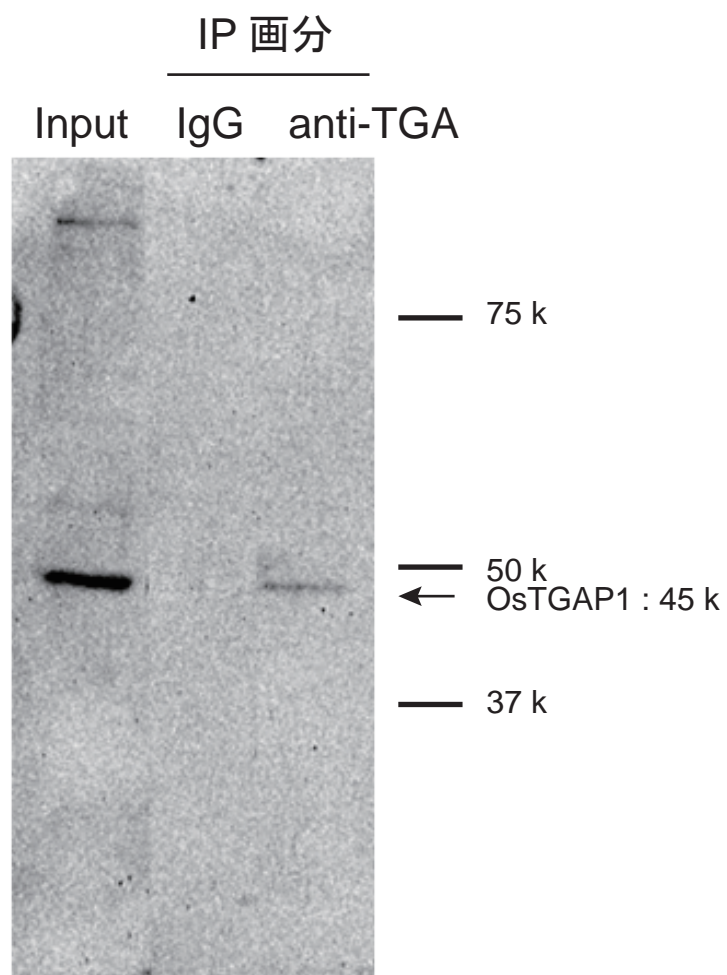


Fig. 3-7 免疫沈降 (IP) 画分における OsTGAP1 の濃縮
 Input 画分および IP 画分を 8% アクリルアミドを含む SDS-PAGE ゲルで泳動し、その後抗 OsTGAP1 抗体によるウェスタン解析を行った。

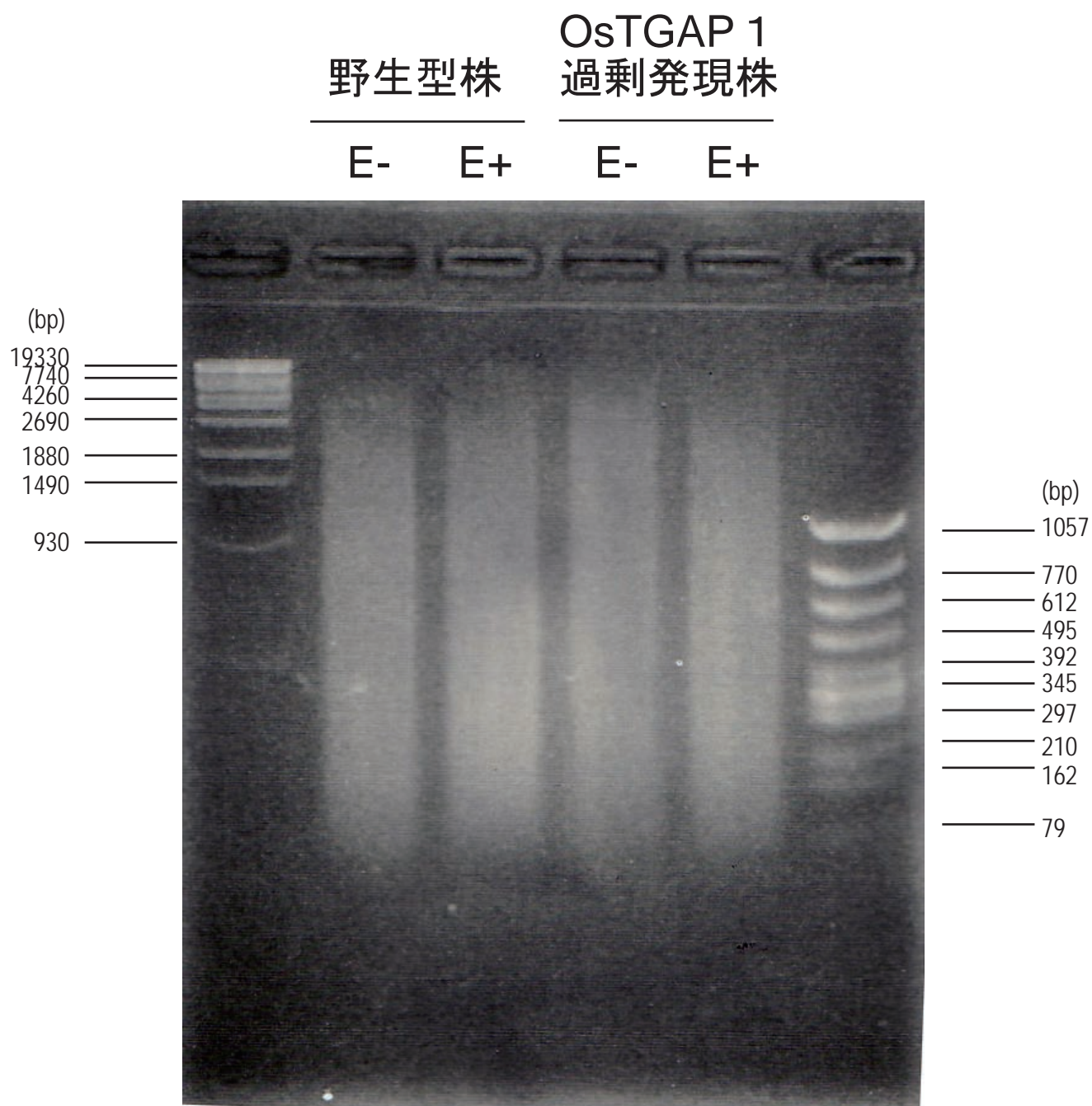


Fig. 3-8 ゲノムの断片化の確認

E- : エリシター未処理時

E+ : エリシター処理後 6 時間

精製後の DNA を 2% アガロースゲルで電気泳動した。

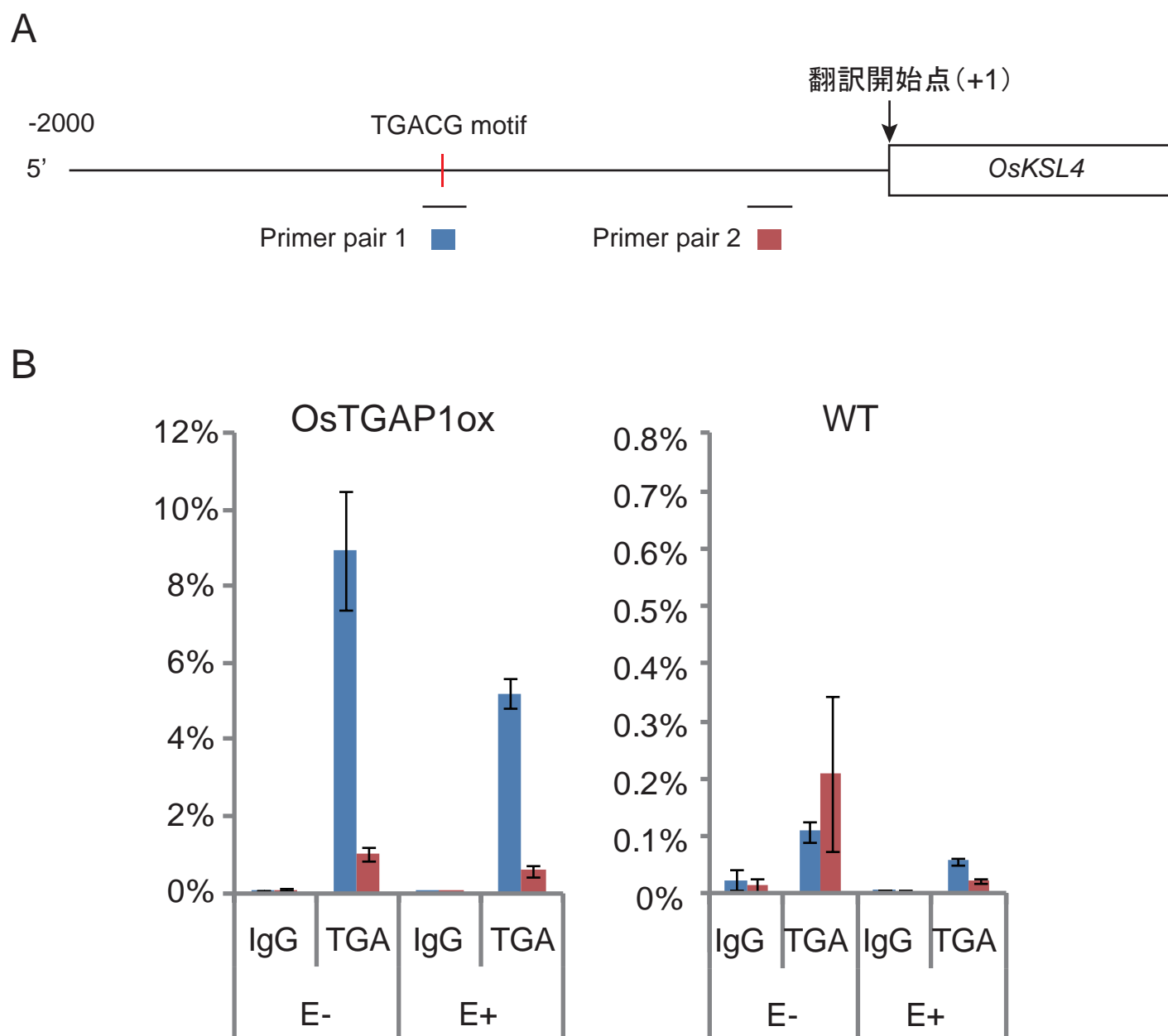


Fig. 3-9 ChIP-PCRによる *OsKSL4* 上流域における *OsTGAP1* の結合の確認

A : PCRに用いたプライマーセット

Primer pair 1 : *OsKSL4* 転写開始点上流約1100 bp (エリシター応答性シスエレメントを含む)

Primer pair 2 : *OsKSL4* 転写開始点上流約200 bp

B : ChIP-PCRの結果

E- : エリシター未処理時

E+ : エリシター処理後6時間

IgG : Rabbit normal IgGで免疫沈降したChIP DNA

TGA : 抗*OsTGAP1*抗体で免疫沈降したChIP DNA

WT : 野生型株

OsTGAP1ox : *OsTGAP1*過剰発現株

グラフの縦軸は各抗体で免疫沈降を行った後の、Inputに対する回収率を示す。

エラーバーは3連の測定における標準偏差を表す。

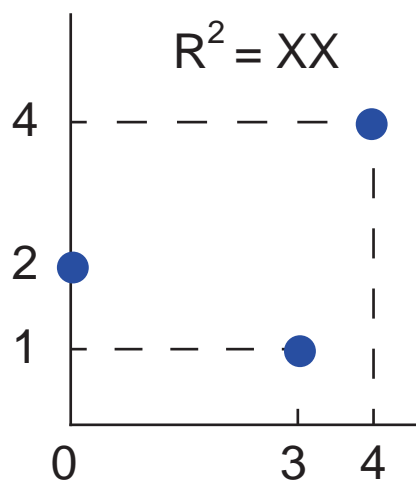
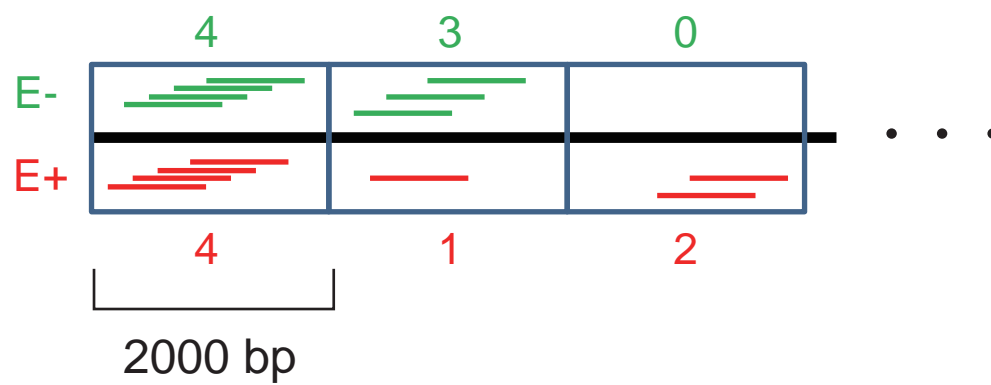


Fig. 3-10 Scatter plot による ChIP-seq 解析のデータの比較
 イネゲノムを 2000 bp ごとに区切り、各セグメントに含まれるリード数を数えた。
 各データにおいて、それぞれのセグメントに含まれるリード数を用いて
 scatter plot を描くとともに、それぞれの組み合わせにおける相関係数を計算した。

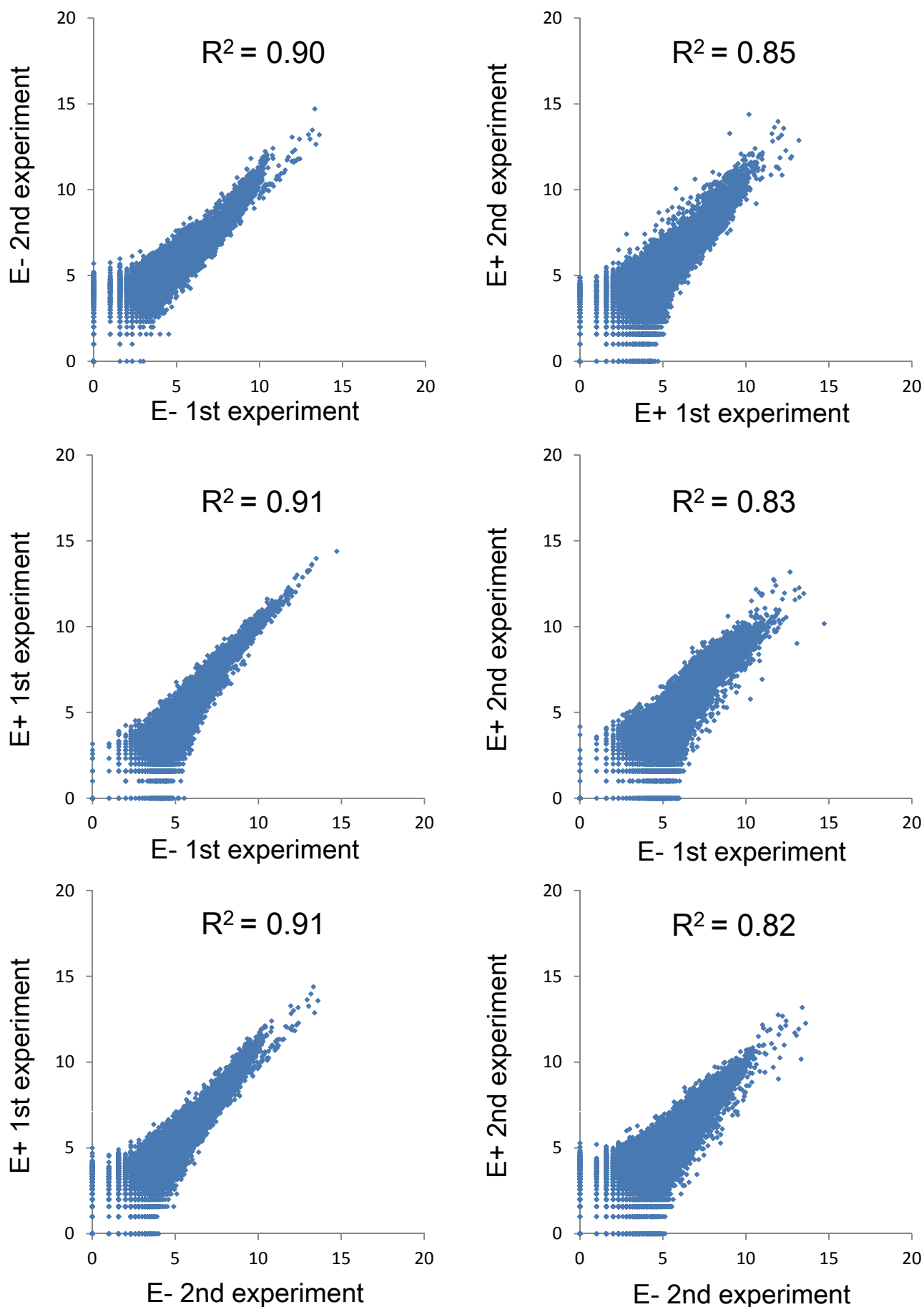


Fig. 3-11 ChIP-seq解析の各データの比較

グラフの軸は各セグメントにおけるリード数を2を底とした対数軸で示した。
相関係数 (R^2)はピアソンの積率相関係数を示した。

E- : エリシター未処理時

E+ : エリシター処理後6時間

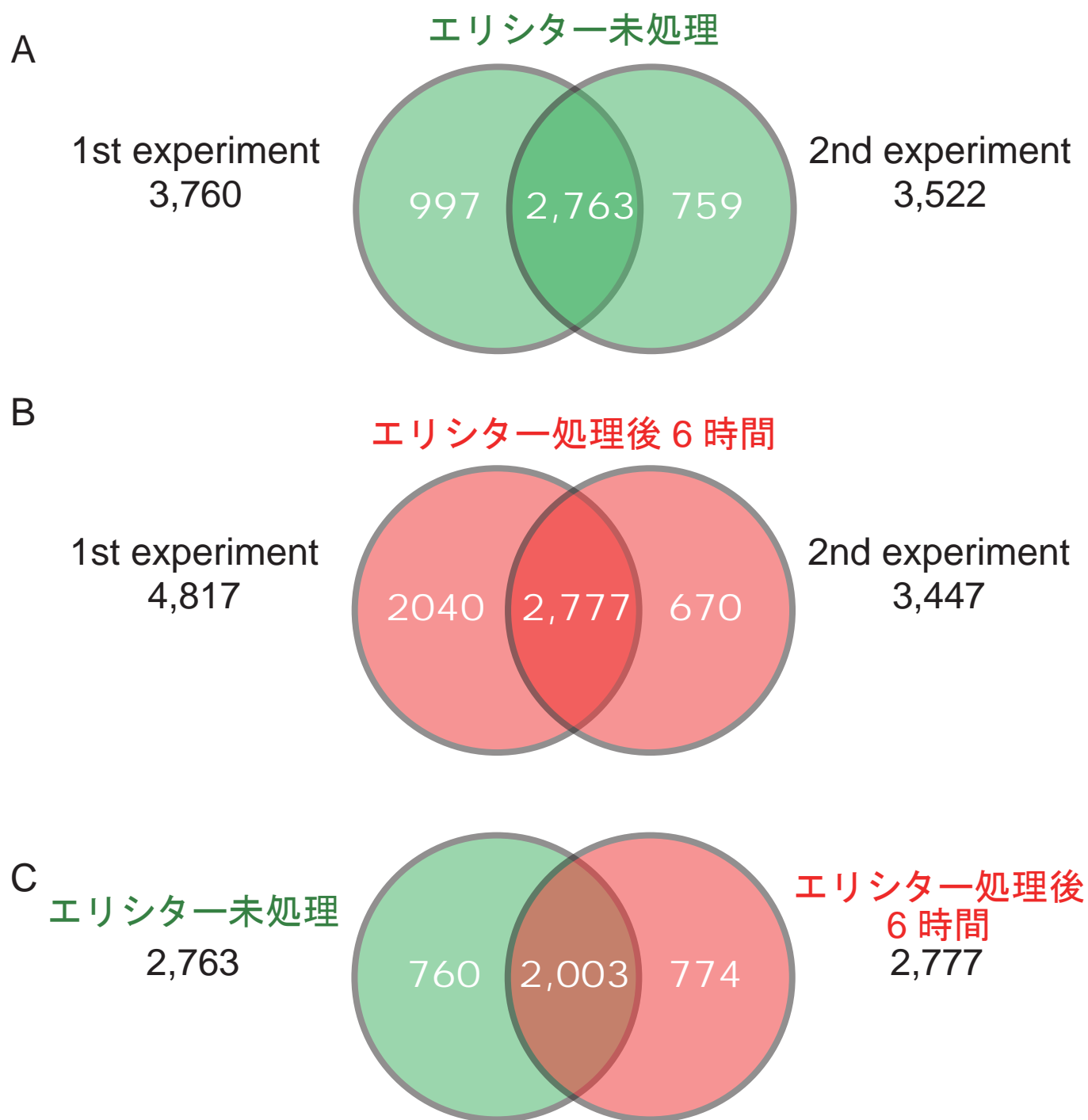


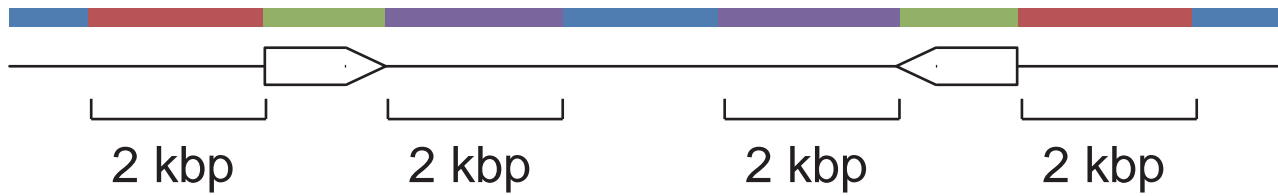
Fig. 3-12 OsTGAP1 の結合領域の同定

A : エリシター未処理時における OsTGAP1 の結合領域

B : エリシター処理後 6 時間における OsTGAP1 の結合領域

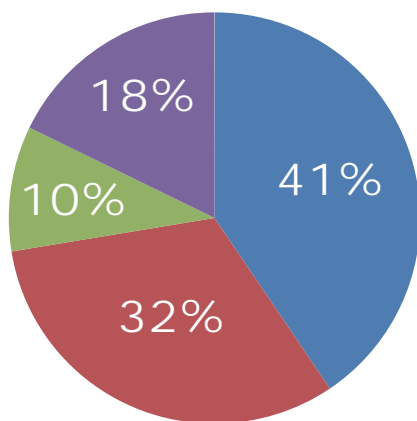
C : エリシター未処理時とエリシター処理後 6 時間における OsTGAP1 の結合領域の重なり

A



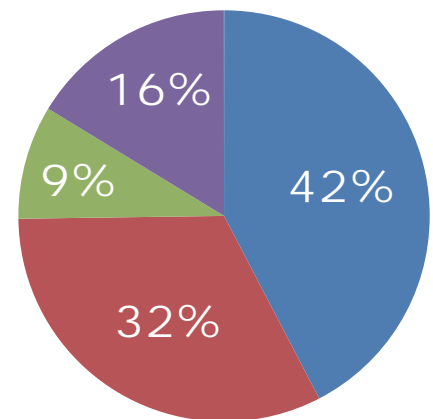
B

エリシター未処理



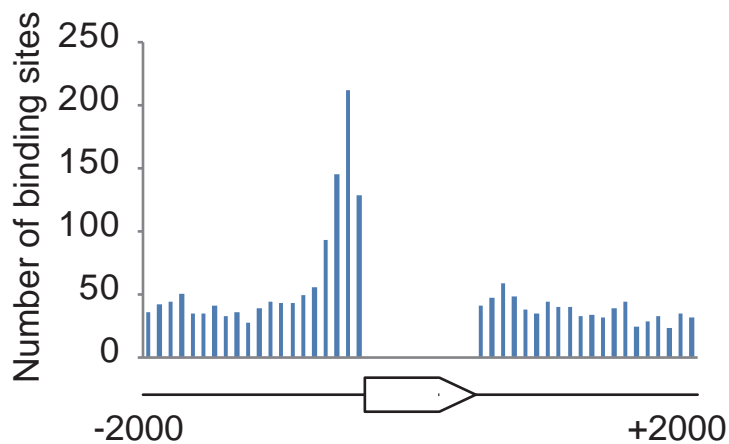
■ Intergenic region
■ Upstream region
■ Gene region
■ Downstream region

エリシター処理後 6 時間



C

エリシター未処理



エリシター処理後 6 時間

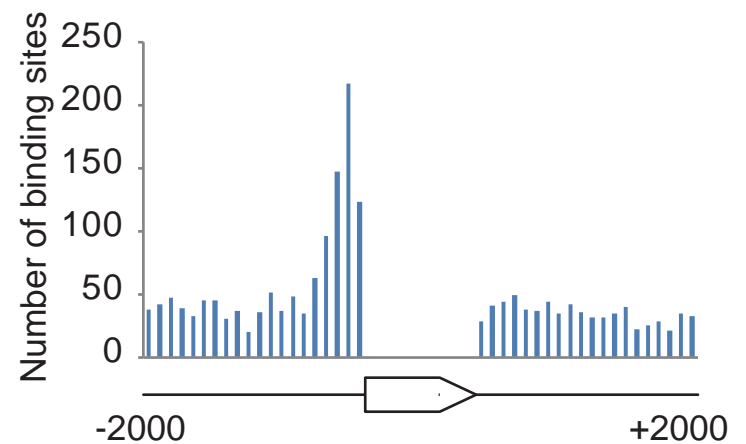


Fig. 3-13 OsTGAP1 の結合位置の分類

A : それぞれの分類の定義

B : OsTGAP1 の結合位置の分類の結果

C : 遺伝子領域周辺における OsTGAP1 の結合位置の分布

Intergenic region : 遺伝子間領域

Upstream region : 上流域

Gene region : 遺伝子領域内

Downstream region : 下流域

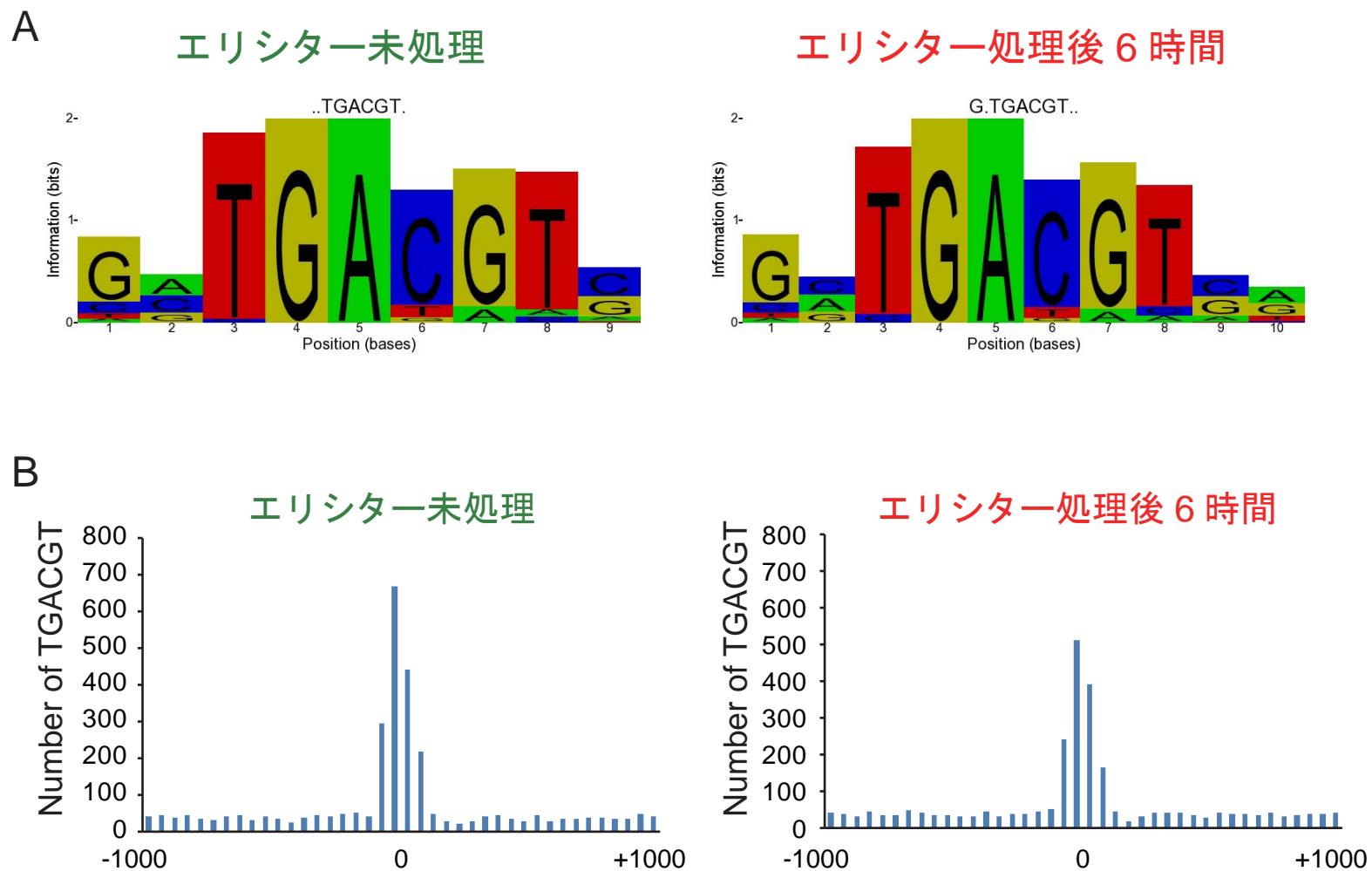
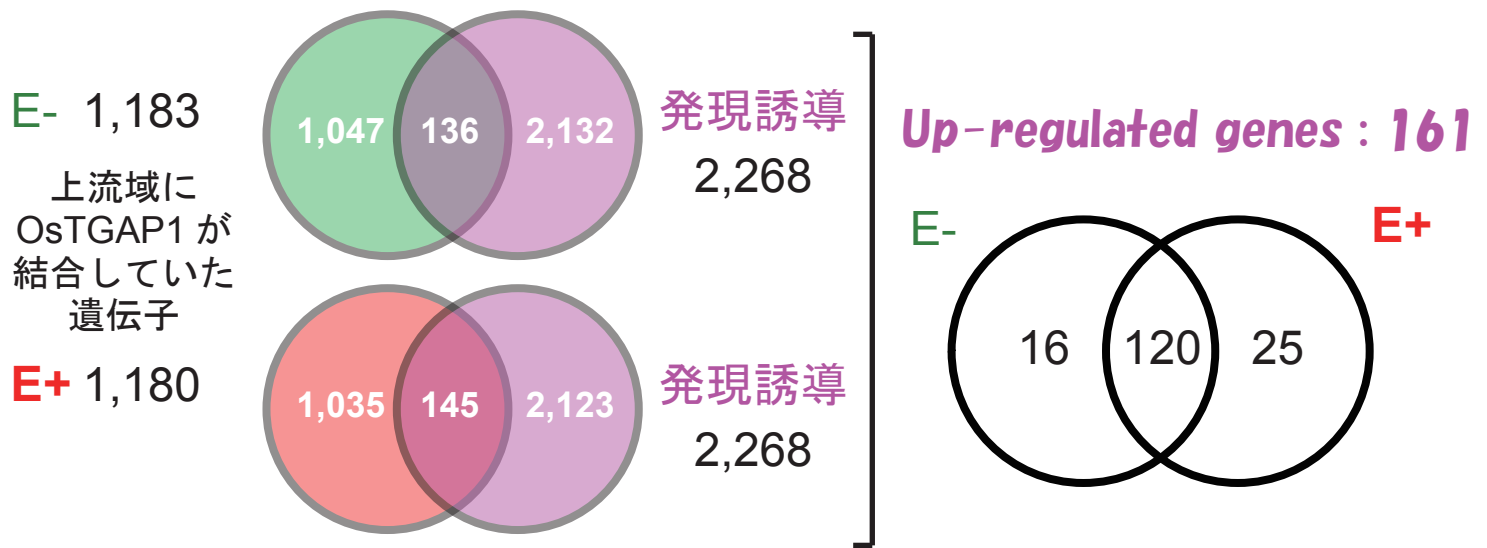


Fig. 3-14 OsTGAP1 の結合配列におけるコンセンサス配列
 A : OsTGAP1 の結合配列に見出されたコンセンサス配列
 B : OsTGAP1 の結合領域におけるの TGACGT 配列の分布

A



B

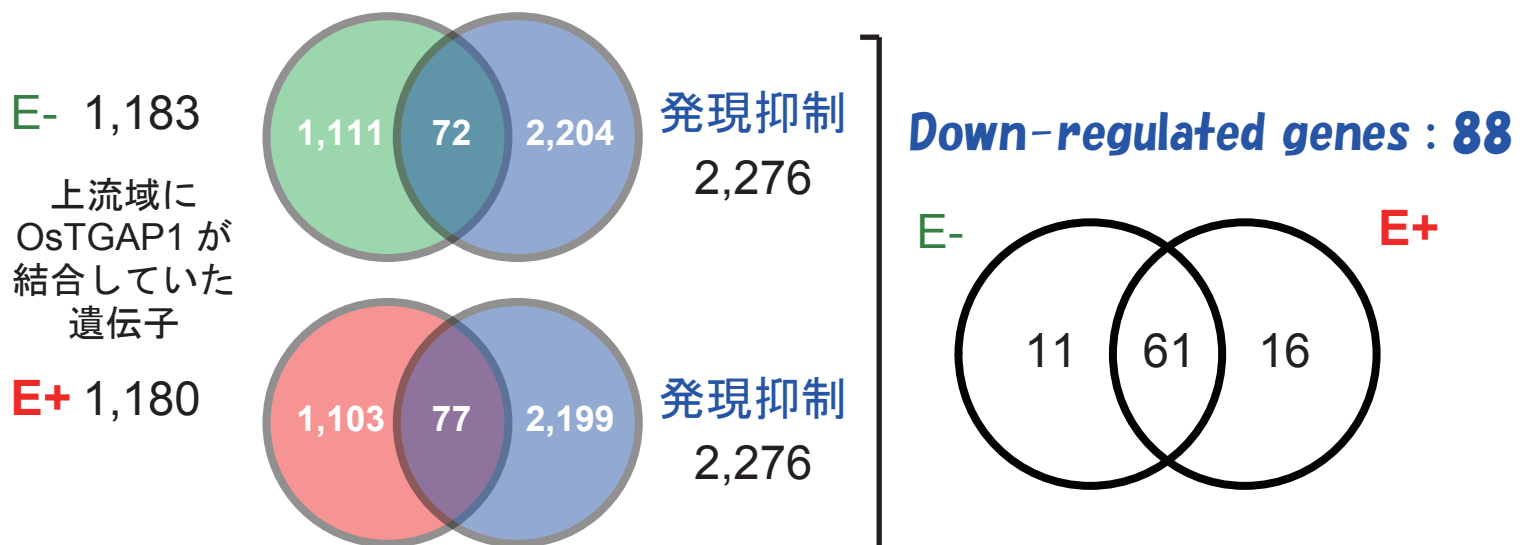


Fig. 3-15 OsTGAP1 の標的候補遺伝子の同定

A : OsTGAP1 過剰発現株で発現が誘導されていた遺伝子群

B : OsTGAP1 過剰発現株で発現が抑制されていた遺伝子群

E- : エリシター未処理時

E+ : エリシター処理時 6 時間

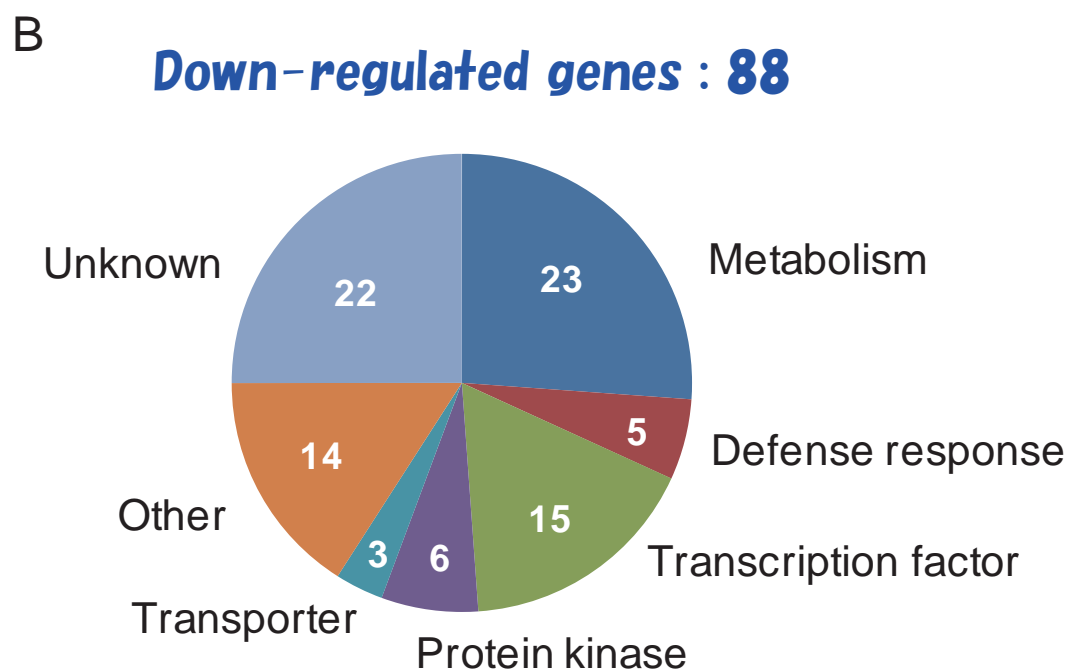
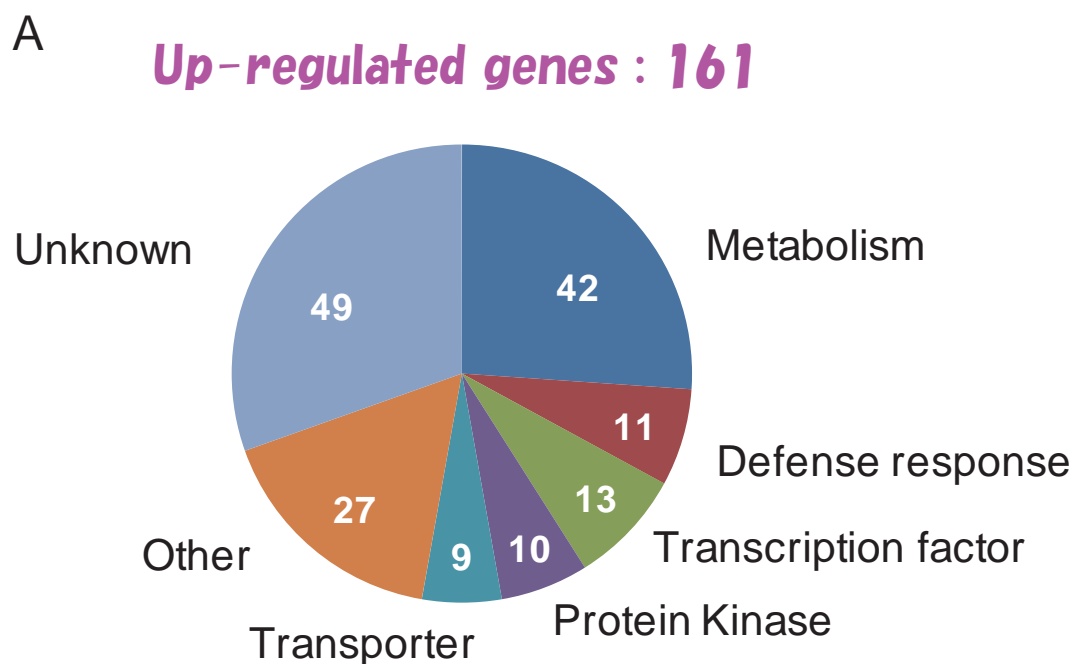
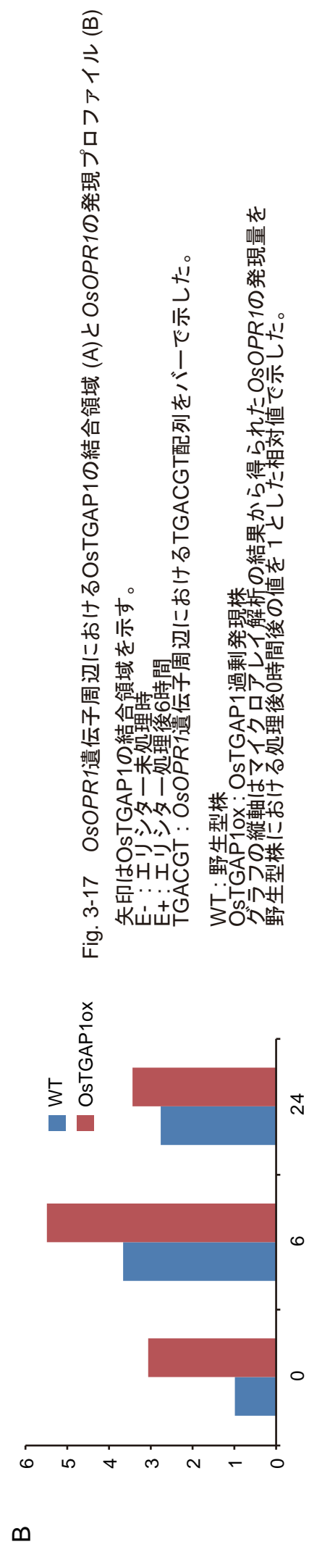
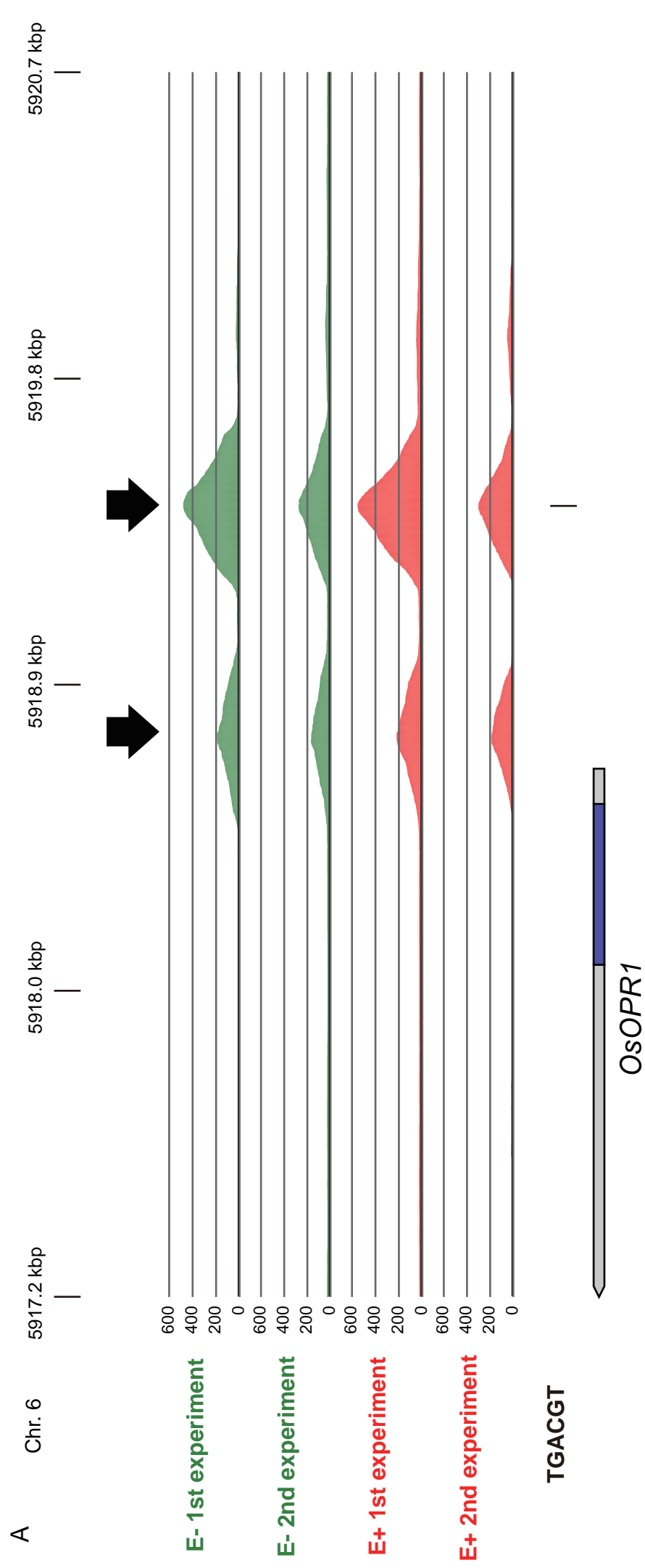


Fig. 3-16 OsTGAP1 の標的候補遺伝子の機能分類
 A : OsTGAP1 過剰発現株で発現が誘導されていた遺伝子群
 B : OsTGAP1 過剰発現株で発現が抑制されていた遺伝子群



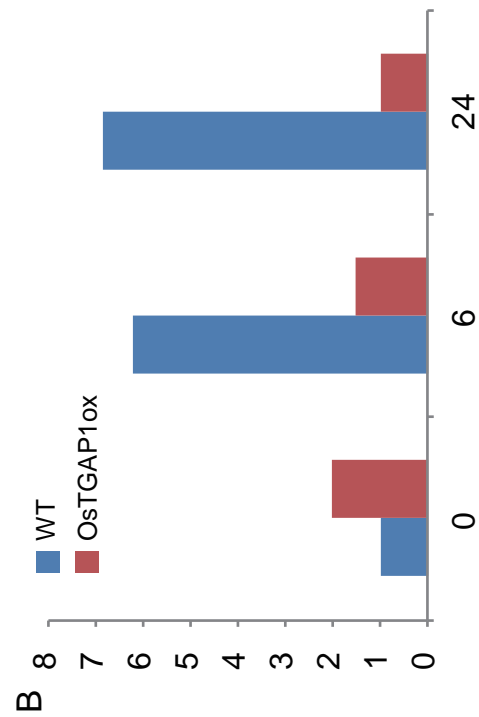
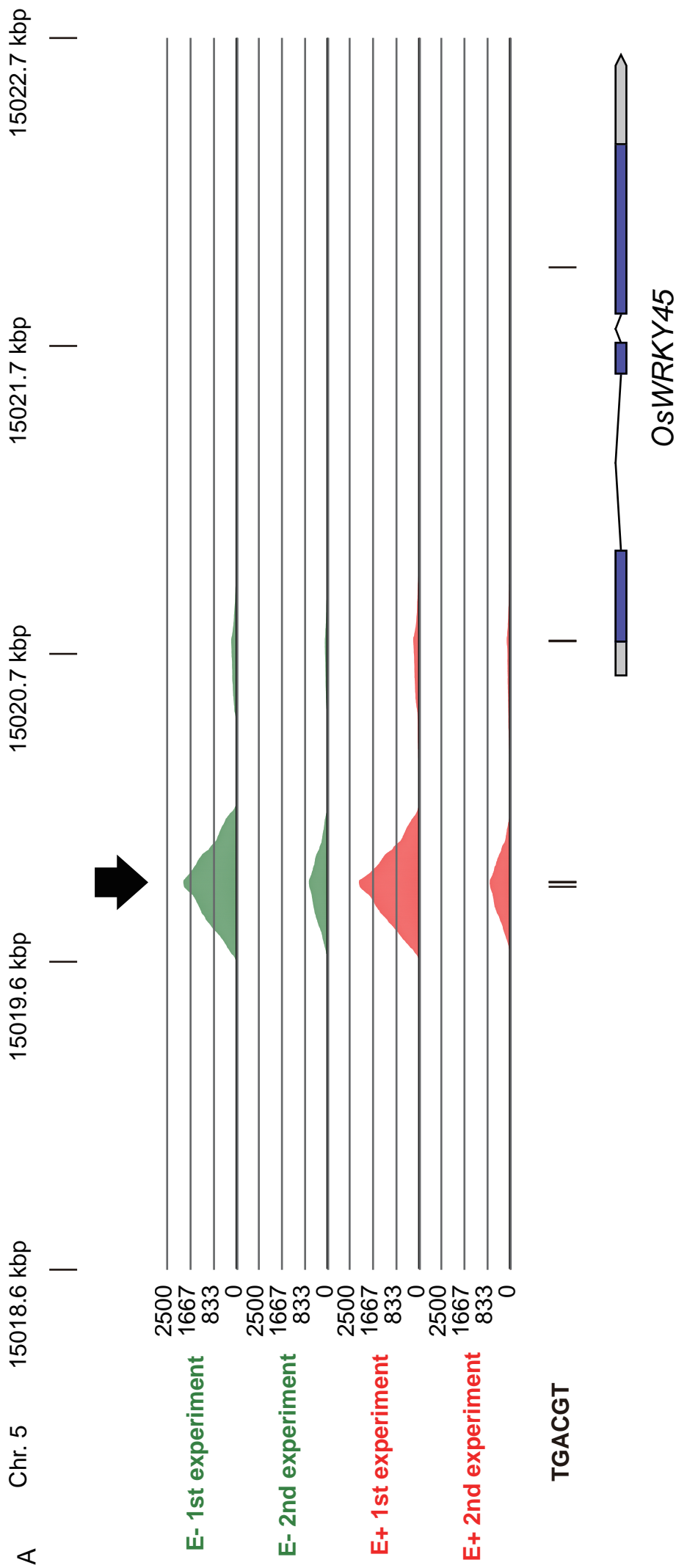


Fig. 3-18 OsWRKY45遺伝子周辺におけるOsTGAP1の結合領域 (A)とOsWRKY45の発現プロファイル (B)

矢印はOsTGAP1の結合領域を示す。
E- : エリシター未処理時
E+ : エリシター処理後6時間
TGACGT : OsWRKY45遺伝子周辺におけるTGACGT配列をバーで示した。

WT : 野生型株
OsTGAP1ox : OsTGAP1過剰発現株
グラフの縦軸はマイクロアレイ解析の結果から得られたOsWRKY45の発現量を野生型株における処理後0時間後の値を1とした相対値で示した。

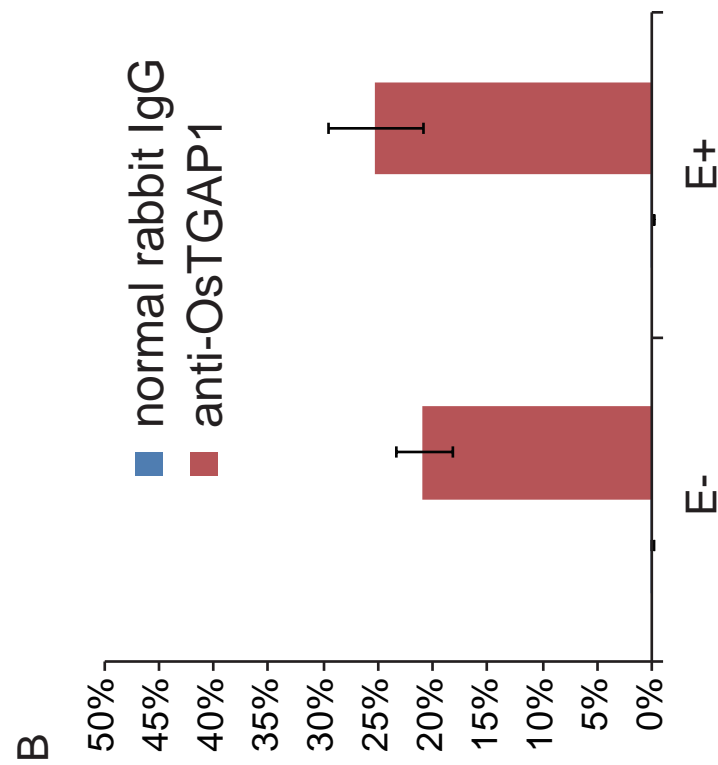
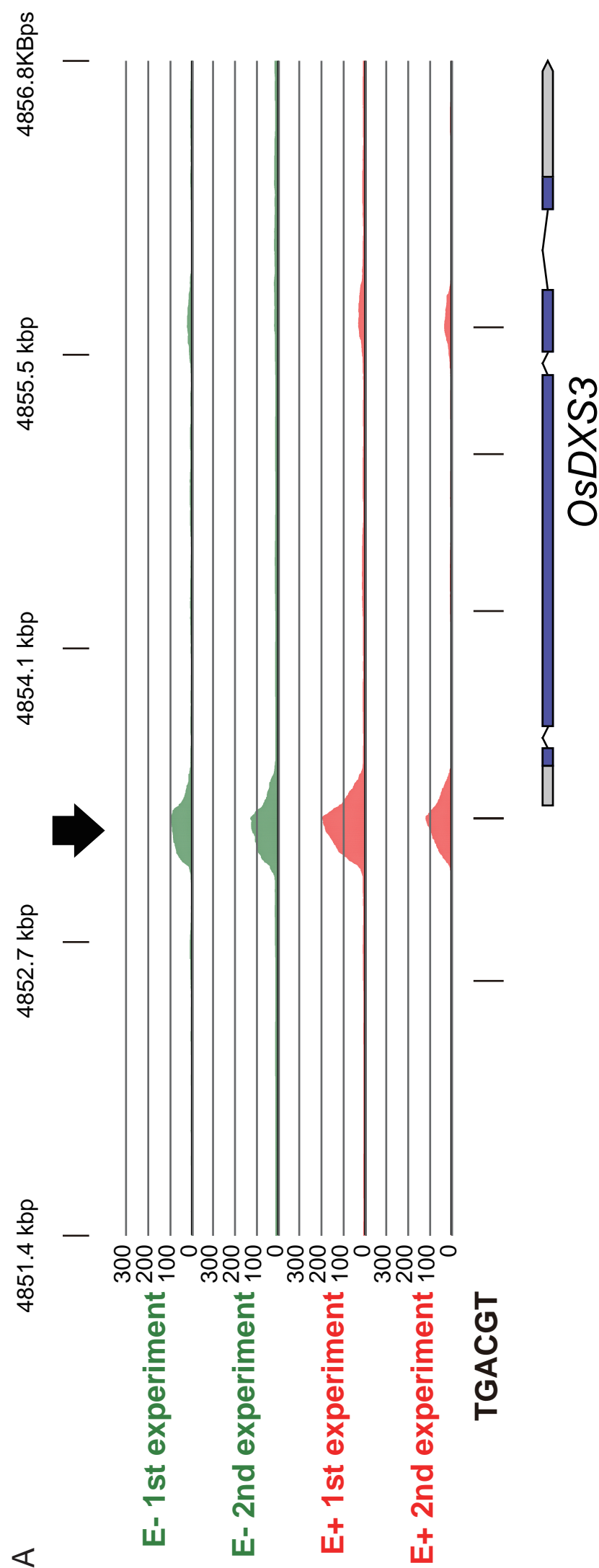


Fig. 3-19 OsDXS3遺伝子周辺におけるOsTGAP1の結合領域

A ChIP-seq解析により見出されたOsTGAP1の結合領域

B ChIP-PCRによるOsTGAP1の結合の確認

矢印はOsTGAP1の結合領域を示す。

E- : エリシター未処理時

E+ : エリシター処理後6時間

TGACGT : OsDXS3遺伝子周辺におけるTGACGT配列をバーで示した。

normal rabbit IgG : Rabbit normal IgGで免疫沈降したChIP DNA

anti-OsTGAP1 : 抗OsTGAP1抗体で免疫沈降したChIP DNA

グラフの縦軸は各抗体で免疫沈降を行った後の、Input に対する回収率を示す。
エラーバーは3 連の測定における標準偏差を表す。

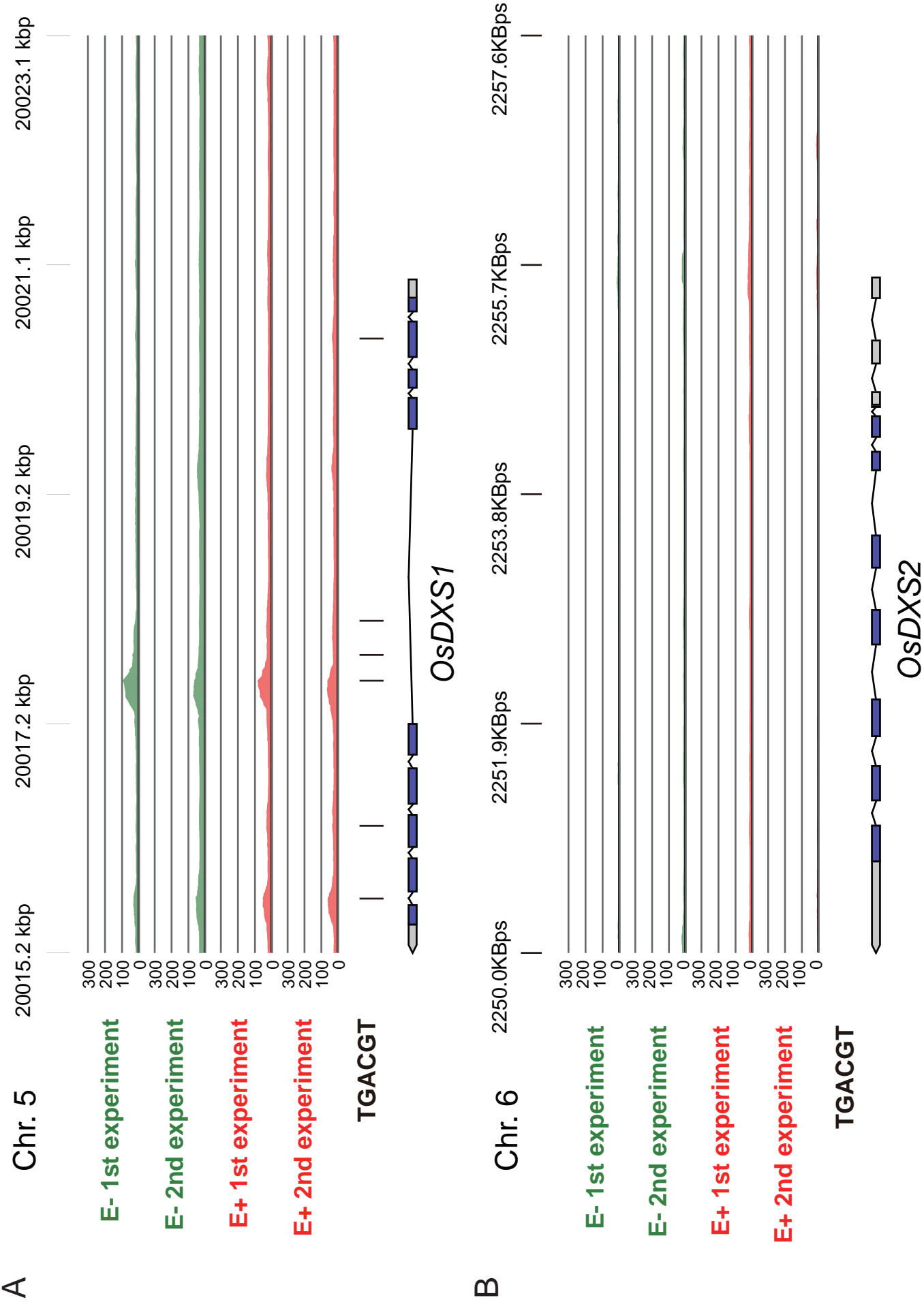


Fig. 3-20 OsDXS1 (A)およびOsDXS2 (B)遺伝子周辺におけるOsTGAP1の結合領域

E- : エリシター未処理時 E+ : エリシター処理後6時間
TGACGT : OsDXS1, OsDXS2遺伝子周辺におけるTGACGT配列をバーで示した

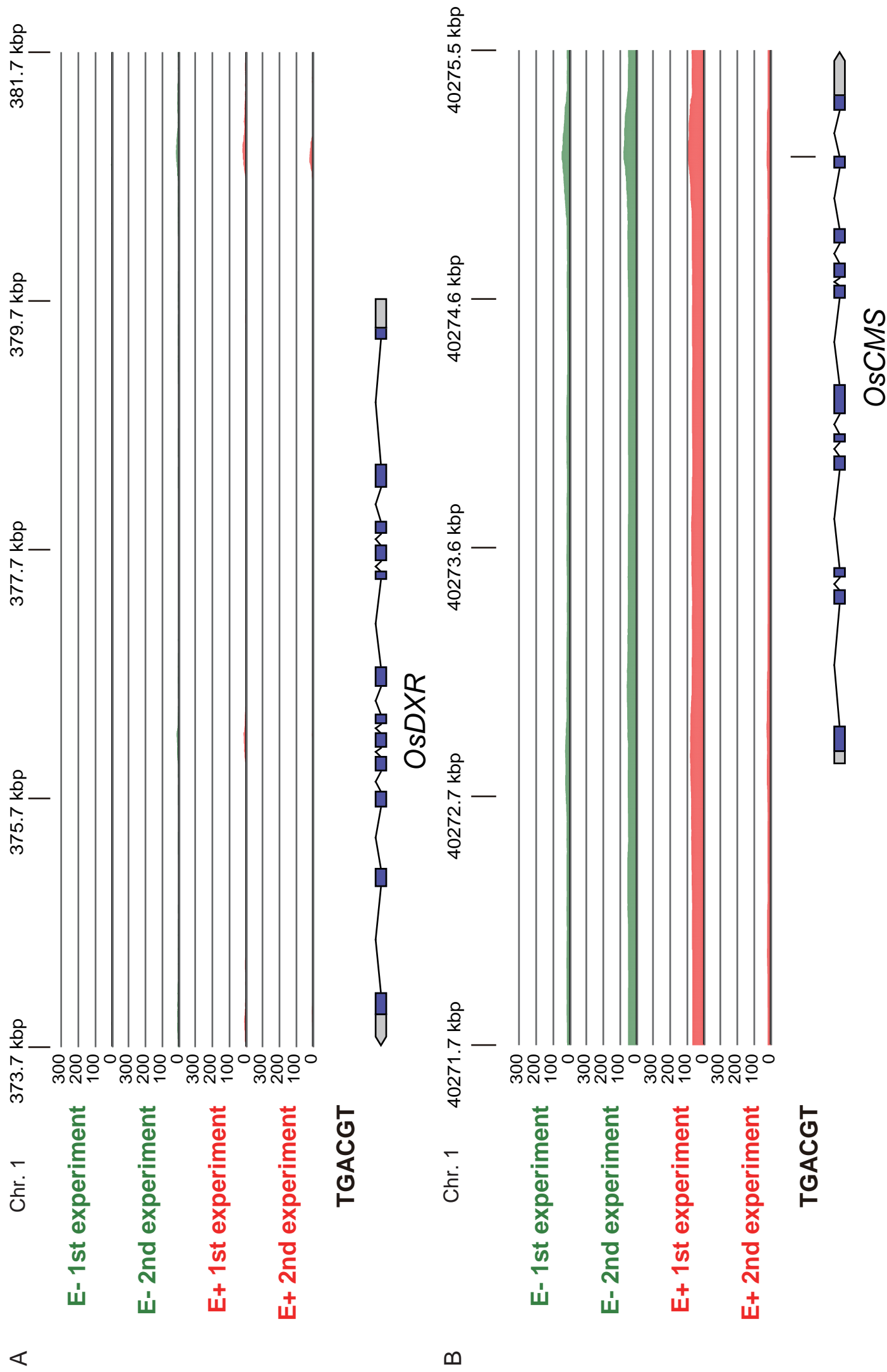


Fig. 3-21 OsDXR (A) およびOsCMS (B) 遺伝子周辺におけるOsTGAP1の結合領域
 E- : エリシター未処理時 E+ : エリシター処理後6時間
 TGACGT : OsDXR, OsCMS遺伝子周辺におけるTGACGT配列をバーで示した。

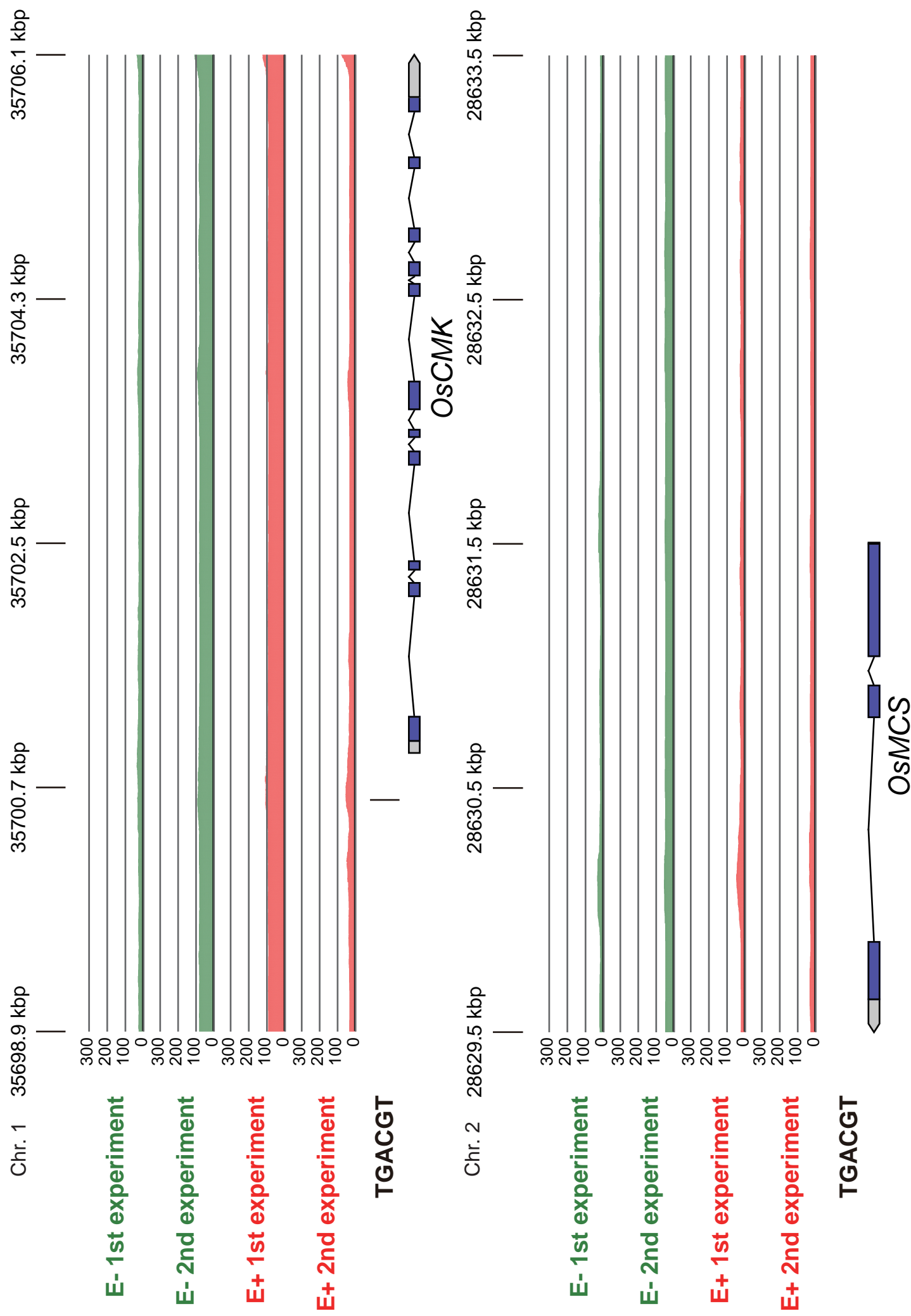


Fig. 3-22 OsCMK (A) およびOsMCS (B) 遺伝子周辺におけるOsTGAP1の結合領域
 E- : エリシター未処理時 E+ : エリシター処理後6時間
 TGACGT : OsCMK, OsMCS遺伝子周辺におけるTGACGT配列をバーで示した。

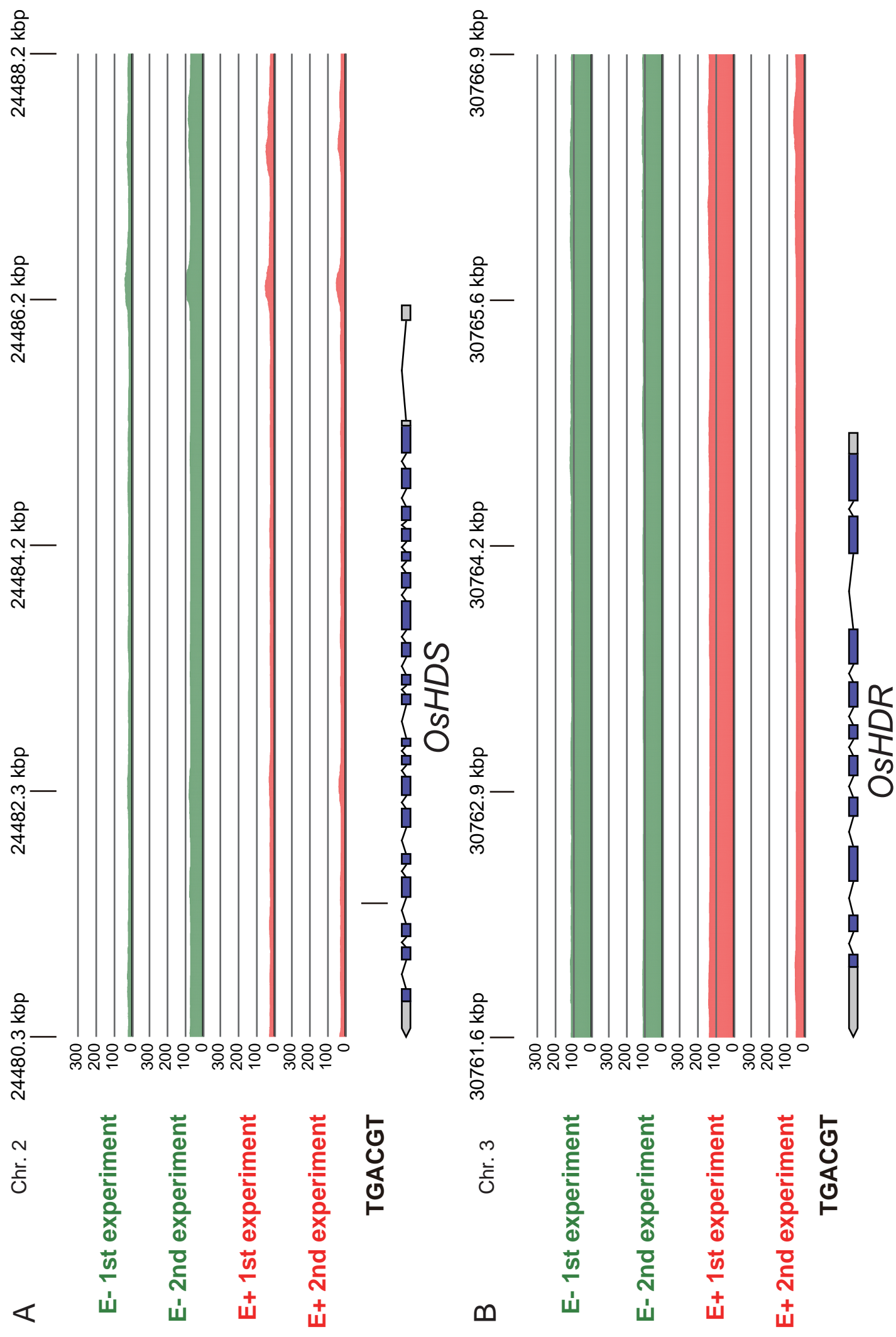


Fig. 3-23 *OsHDS*(A) および *OsHDR* (B) 遺伝子周辺における *OsTGAP1* の結合領域
 E- : エリシター未処理時 E+ : エリシター処理後6時間
 TGACGT : *OsHDS*, *OsHDR* 遺伝子周辺における TGACGT 配列をバーで示した。