

短期研究員活動報告／Short-term researcher Activities Report

京都大学助教 伊藤照悟（派遣期間：2025 年 6 月 23 日から 28 日）

京都大学准教授 小山時隆（派遣期間：2025 年 6 月 23 日から 26 日）

名古屋大学助教 村中智明（派遣期間：2025 年 6 月 25 日から 28 日）

Asst. Prof. Dr. Shogo Ito, Kyoto University (Duration: 23 – 28 June 2025)

Assoc. Prof. Dr. Tokitaka Oyama, Kyoto University (Duration: 23 – 26 June 2025)

Asst. Prof. Dr. Tomoaki Muranaka, Nagoya University (Duration: 25 – 28 June 2025)

6 月 24 日~25 日

小山、伊藤がカセサート大学において、Dr. Kannika、Dr. Yosapol、Prof. Arinthip と研究の進捗と今後の研究方針について打ち合わせを行いました。

また、Dr. Ekaphan と植物園に生育するウキクサを視察し、今後の研究方針について打ち合わせを行いました。伊藤は、野外に生息するウキクサ植物（ナンゴクアオウキクサ）の網羅的な遺伝子発現の日周変解析のために、24 日の 12:00 より 25 日の 9:00 までは 3 時間毎にウキクサ植物を採取し、それぞれの時間帯の植物サンプルから RNA を抽出しました。この日は、雨季のほぼ夏至に当たり、今後は秋分、冬至、春分の時期に同様の 24 時間のサンプリングを行うことで、タイにおける野外のウキクサ植物（ナンゴクアオウキクサ）の全遺伝子の日周発現変動・季節発現変動を解析する予定です。

Dr. Oyama and Dr. Ito discussed the recent progress and future plans of their research projects with Dr. Kannika and Dr. Yosapol. They also discussed the recent findings on the symbiotic microorganisms of duckweed and the transcriptome of duckweed with Prof. Arinthip.

They also visited the duckweed (*Lemna aequinoctialis*) growing in the botanical garden with Dr. Ekaphan and discussed their future research plans.

Dr. Ito harvested duckweed plants growing in the botanical garden every three hours from 12:00 to 9:00 on the next day (whole day), and extracted RNA from the plant samples collected at each time point to comprehensively analyze the diurnal fluctuations of gene expression in naturally-growing duckweed (*Lemna aequinoctialis*). The day the plants were harvested corresponded almost to the summer solstice, which is typically the rainy season in Thailand. Dr. Ito is planning to conduct the same 24-hour sampling at the autumn equinox, winter solstice and vernal equinox to analyze not only the diurnal fluctuations but also the seasonal changes in the whole transcriptome in wild-grown duckweed plants in Thailand.

6 月 26~27 日

伊藤はタイ側の G3 が取得維持しているウキクサ植物を Dr. Peerapat と共同で液体窒素を用いた急速凍結（ガラス化法）の実演と同時に、保存を行いました。一部のサンプルについては短時間の保存のあとに急速解凍し、十分な生存率あることを確かめました。これにより、タイ国内の様々な地域で採取された貴重なウキクサ植物を安全に半永久的に次世代へと残すための液体窒素下での保存を開始することができました。同種のウキクサ (duckweed) であっても、生育地の違いによって様々な特徴の違い(natural variation)があることがわかっています。今回は 3 種のウキクサ植物(*Spirodela polyrhiza*, *Landoltia punctata*, *Lemna aequinoctialis*)で合計 11 株を保存しました。

In collaboration with Dr. Peerapat (a member of G3), Dr. Ito demonstrated a cryopreservation (vitrification) method using liquid nitrogen for preserving the duckweed plants collected in Thailand by G3. Some of the preserved samples were quickly thawed after short-term storage, and it was confirmed that viability was successfully maintained. It is well known that even within the same species of duckweed, there are a wide range of natural variations in characteristics depending on the habitat. This technique enabled the precious duckweed plants collected from various regions of Thailand to be safely and semi-permanently preserved in liquid nitrogen as cryobank for future generations. During this short-term visit, 11 strains of three species of duckweed (*Spirodela polyrhiza*, *Landoltia punctata*, and *Lemna aequinoctialis*) were cryopreserved.

6 月 26~27 日

村中、伊藤は G2 タイ側リーダーの Dr. Ekaphan とウキクサ植物の種内・種間の多様性の解析のためのフローサイトメトリーを用いた、核相解析（DNA 含量解析）手法についての研修と、タイ・日本に生息するアオウキクサの倍数性の違いなど、多様性の解析に関する共同研究の方針について打ち合わせを行いました。

Dr. Muranaka and Dr. Ito demonstrated to Dr. Ekaphan, the G2 leader for Thailand, and his students the nuclear phase analysis (DNA content analysis) methods using flow cytometry to analyze intra- and inter-specific diversity in duckweed plants, and discussed their cooperative research on analyzing the diversity, including differences in ploidy levels of duckweed found in Thailand and Japan.

