「二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力強化と
生産物活用のための基盤技術の創出」
平成 24 年度採択研究代表者

H26 年度
実績報告書

梅田　正明

奈良先端科学技術大学院大学　バイオサイエンス研究科
教授

DNA 倍加誘導系の確立による高バイオマス植物の創出

§1. 研究実施体制

(1)梅田グループ
① 研究代表者:梅田　正明 （奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科、教授）
② 研究項目
・ ポプラにおける細胞周期関連遺伝子の過剰発現または発現抑制による DNA 倍加誘導
・ 分解型 *CDKB2* の導入によるイネの DNA 倍加誘導
・ エピジェネティック制御による DNA 倍加誘導
・ ポプラで利用できる組織特異的プロモーターの単離

(2)伊藤グループ
① 主たる共同研究者:伊藤　正樹 （名古屋大学大学院生命農学研究科、准教授）
② 研究項目
・ イネにおける細胞周期関連遺伝子の過剰発現または発現抑制によるDNA倍加誘導
・ APC標的タンパク質の同定とDNA倍加への利用
・ 新規なDNA倍加促進因子の同定とDNA倍加への利用
・ イネのDNA倍加変異体の単離と利用

§2. 研究実施の概要

DNA 倍加は細胞や器官を肥大化させ、代謝産物の蓄積を増大させる。したがって、シンク器官でDNA倍加を促進することにより、バイオマスの効率的増産を期待できる。一方で、バイオリファイナリーの原料となるポプラなどの木本植物やイネでは、ほとんど DNA 倍加が起きない。そこで、本研究ではポプラやイネで DNA 倍加を誘発することにより、植物バイオマスの効率的増産を実現する技術開発を目指している。

これまで主にシロイヌナズナを用いた研究により、細胞周期のG2/M期の移行を阻害するとDNA倍加が促進されることがわかっている。そこで、G2/M期に働くCDKBや、そのパートナーである分裂期サイクリンの転写制御に関わる MYB3R、また分裂期サイクリンの分解に関わる後期促進複合体(APC)の活性化因子や阻害因子に着目し、ポプラおよびイネで過剰発現または発現抑制を試みている。ポプラでは、これまでに *CDKB* や *MYB3R* の発現抑制、および APC 活性化因子の過剰発現により倍数体が得られている。一方イネでは、*MYB3R* の発現抑制により 4 倍体が得られ、体細胞レベルの DNA 倍加も確認することができた。種々の解析結果から、このノックダウン株ではエンドマイトーシス（染色体数が増加するタイプの DNA 倍加）が生じているものと考えられた。

このような既知の細胞周期関連遺伝子を利用した解析の他、新規な倍加関連遺伝子の同定も進めている。まず、異所的に DNA 倍加を引き起こすシロイヌナズナ *gig1* 変異体に cDNA ライブラリーを導入し、過剰発現により倍加表現型が亢進するものとしてこれまでに 11 種の cDNA を単離した。また、DNA倍加が生じるイネ変異体の単離・解析も進めており、現在までに9系統の倍加変異体を単離することに成功した。現在、次世代シーケンスにより原因遺伝子の特定に向けた解析を進めている。

これまでの解析から、ポプラにおいては体細胞レベルの DNA 倍加が起こりにくいことが示唆されている。そこで、DNA 倍加能に差が見られる培養細胞やシロイヌナズナ変異体を用いてセントロメア付近のクロマチン構造を解析した結果、ヘテロクロマチンの緩和がDNA倍加の誘導に重要であることが示唆された。また平成 26 年度は、細胞周期のイメージング解析に利用できる S/G2 期マーカーを作成し、DNA 倍加への移行過程を調べる上で有効なツールであることを確認した [1)]。そこで、今後はこのマーカーも用いてエピジェネティック制御遺伝子の発現解析を細胞周期レベルで行い、DNA 倍加能に関わる鍵因子を絞り込んでいく予定である。これにより、細胞周期とエピジェネティック修飾の両面から DNA 倍加を誘発する技術開発を進めていく。

1. Yin, K., Ueda, M., Takagi, H., Kajihara, T., Sugamata Aki, S., Nobusawa, T., Umeda-Hara, C. and Umeda, M. A dual-color marker system for *in vivo* visualization of cell cycle progression in *Arabidopsis*. *Plant J.* 80: 541-552, 2014