

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

H25 年度 実績報告

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
 - 1) ポプラにおける既知因子の過剰発現または発現抑制による DNA 倍加誘導
 - 2) ポプラにおける CDK インヒビターの過剰発現による DNA 倍加誘導
 - 3) イネへの分解型 *CDKB2* 遺伝子の導入による DNA 倍加誘導
 - 4) エピジェネティック制御による DNA 倍加誘導
 - 5) ポプラで利用できる有効な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
 - 1) イネにおける既知因子の過剰発現または発現抑制による DNA 倍加誘導
 - 2) APC 標的タンパク質の同定と DNA 倍加への応用
 - 3) エンドマイトーシス促進因子の同定と DNA 倍加への応用
 - 4) イネの DNA 倍加変異体の単離と利用

§ 2. 研究実施の概要

DNA 倍加は細胞を肥大化させ器官を巨大化させることが知られているが、代謝産物の蓄積も増大させる。したがって、シンク器官における DNA 倍加の促進はバイオマスの増産をもたらすものと期待されるが、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、殆ど DNA 倍加が起きないことも知られている。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。

梅田グループでは、これまでの研究から DNA 倍加誘導を期待できる既知細胞周期遺伝子に注目し、ポプラにおける過剰発現体やノックダウン植物の作成を進めている。予備的な核相分析の結果、いくつかの形質転換系統で四倍体ポプラが得られている。しかし、シロイヌナズナのように成長過程で DNA 倍加が恒常的見られるような表現型は得られていないことから、ポプラは DNA 倍加能をもつものの、何らかの要因でそれが抑制されていると考えられる。現在、その要因の一つがエピジェネティックな制御である可能性を考え、シロイヌナズナを用いた検証を進めている。

CDK インヒビターの発現誘導はシロイヌナズナにおいて DNA 倍加を促進することが知られている。そこで、DNA 倍加をもたらす DNA 損傷ストレスに対する発現応答性を調べたところ、シロイヌナズナの *SMR5*, *SMR7* が DNA 損傷により直接発現誘導される CDK インヒビターであることがわかった。今後、これらの CDK インヒビターをポプラで発現させ、DNA 倍加誘導について検討する予定である。ポプラにおけるバイオマス増産を考えた場合、DNA 倍加の誘発は細胞分裂終了後に木部組織特異的に行う必要があるため、その目的に適うプロモーターの単離も試みている。

伊藤グループでは、後期促進複合体(APC)関連の因子の発現を操作することにより DNA 倍加を誘導する系の確立を目指している。このためイネにおいて APC 関連因子を過剰発現または発現抑制させる形質転換体の作出を進めている。また、リソースから取得したいいくつかのトランスポゾン挿入変異体系統についても解析を進めている。一方、DNA 倍加を抑制することが知られている *GIG1* を利用し、その過剰発現により蓄積量が増大するタンパク質を APC の基質として同定することを試みている。質量分析を用いた iTRAQ 解析を行なった結果、これまでにシロイヌナズナ地上部から 46 種類、根から 41 種類の候補因子を同定した。今後は増殖中の細胞における APC 標的タンパク質を同定するため、シロイヌナズナ培養細胞を用いた実験系を検討する予定である。このように同定した APC 標的タンパク質から DNA 倍加に直接関連する因子を同定し、イネにおいて発現を操作することにより、より精緻な DNA 倍加制御技術の開発を目指す。

以上の他に、DNA 倍加に関連する新規因子の獲得を目指した研究を行っている。その一つとして、*gig1* 変異体で見られる DNA 倍加をさらに促進する遺伝子をシロイヌナズナ由来の cDNA ライブラリーの中から探索している。一次スクリーニングの結果、37 個の cDNA を同定することができたので、今後 DNA 倍加誘導の確認と各遺伝子の機能解析を進めていく。また、DNA 倍加を異所的に引き起こすイネ変異体を単離するため、これまでに二系統の変異種子プールをスクリーニングし、合計 5 個の DNA 倍加変異体を取得することができた。今後、新たな変異系統のスクリーニングを行うとともに、得られた変異体の遺伝解析や表現型解析を進める予定である。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報

1 Okushima, Y., Shimizu, K., Ishida, T., Sugimoto, K. and Umeda, M. Differential regulation of B2-type CDK accumulation in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell Rep.* in press, 2014 (DOI: 10.1007/s00299-014-1581-z)

2 Yi, D., Kamei, C. L. A., Cools, T., Vanderauwera, S., Takahashi, N., Okushima, Y., Eekhout, T., Yoshiyama, K. O., Larkin, J., Van den Daele, H., Conklin, P., Britt, A., Umeda, M. and De Veylder, L. The *Arabidopsis thaliana* SIAMESE-RELATED cyclin-dependent kinase inhibitors SMR5 and SMR7 control the DNA damage checkpoint in response to reactive oxygen species. *Plant Cell* 26, 296–309, 2014 (DOI: 10.1105/tpc.113.118943)

3 Takahashi, N., Kong, S. and Umeda, M. Dof transcription factors control the expression of the anaphase promoting complex/cyclosome activator *CCS52A1*. *Plant Biotechnol.* 30, 407–410, 2013 (DOI: 10.5511/plantbiotechnology.13.0408a)

4 Araki, S., Kato, K., Suzuki, T., Okumura, T., Machida, Y. and Ito, M. Cosuppression of *NtmybA1* and *NtmybA2* causes downregulation of G2/M phase-expressed genes and negatively affects both cell division and expansion in tobacco. *Plant Sig. Behav.* 9, e26780, 2013 (DOI: 10.4161/psb.26780)

5 Takahashi, N., Kajihara, T., Okamura, C., Kim, Y., Katagiri, Y., Okushima, Y., Matsunaga, S., Hwang, I. and Umeda, M. Cytokinins control endocycle onset by promoting the expression of an APC/C activator in *Arabidopsis* roots. *Curr. Biol.* 23, 1812–1817, 2013 (DOI: 10.1016/j.cub.2013.07.051)

本論文では、シロイヌナズナの倍加促進因子として知られる *CCS52A1* 遺伝子が、サイトカイニンシグナルの下流で働く転写因子 *ARR2* により直接制御されることを明らかにした。この転写調節が DNA 倍加の制御を通して根のメリステムのサイズを決めていることを示した。

6 Yoshiyama, K. O., Kobayashi, J., Ogita, N., Ueda, M., Kimura, S., Maki, H. and Umeda, M. ATM-mediated phosphorylation of SOG1 is essential for the DNA damage response in *Arabidopsis*. *EMBO Rep.* 14, 817–822, 2013 (DOI: 10.1038/embor.2013.112)

(3-2) 知財出願

①平成 25 年度特許出願件数(国内 0 件)

②CREST 研究期間累積件数(国内 0 件)