

植物細胞育種研究ユニット

Plant Breeding and Cell Engineering Research Unit

ユニットリーダー 松山 知樹
MATSUYAMA, Tomoki

当研究ユニットは平成 19 年 10 月に設置された。シロイヌナズナ・イネではほぼ全てのゲノム遺伝情報が明らかになり、植物研究は新たなステージへと展開している。我々は、これらの塩基配列情報をフルに活用したバーチャルRLGSシステムを開発し、植物のみならずマウスや微生物のゲノム解析へも応用し、変異体解析や DNA メチレーションに関するゲノムワイド解析において新しい局面を開拓してきた。その過程で遺伝子をコードしていないために高い変異集積のある反復配列の知見やこれまでに報告のない形質を付与されたシロイヌナズナ・クロロフィル生合成突然変異体を得てきた。これらの細胞遺伝学的あるいは生化学的解析を進めることで有用 DNA マーカーの開発と新規遺伝子資源の探索研究を行い、植物育種への寄与を目的とした研究を行う。

1. DNAマーキングプロジェクト

(1) 反復配列を利用した特定品種特異的 DNA マークの作出 (松山、宮地*、中鉢*、加藤*)

平成 19 年度農林水産省の先端技術を活用した農林水産研究高度化事業において課題名「DNA マーキングによる栄養繁殖作物の品種・産地判別技術の開発」として採択に至った。これは、重イオンビーム照射後、形態・形質に変異のないプールから、非遺伝子領域であるレトロトランスポゾンに注目し、品種特有の「DNA マーク」を作出するというプロジェクトである。これにより、「21 世紀新農政」で強調されている知的財産としての農林水産物の権利化と積極的な保護・活用推進への貢献を図る。ここでは栄養繁殖作物のうち、花き・果樹に重点をおいて進めており、鹿児島県の輪ギク「新神」において既に DNA マーク作成に至り、同様な内容の研究をラン・ナシにおいても進めている。

2. バーチャルRLGSシステム

(1) *in silico* ゲノムスキャニングシステム (バーチャル RLGS システム) の応用展開 (松山)

日本で開発された 2 次元電気泳動による高精度 DNA 多型検出法: Restriction Landmark Genomic Scanning (RLGS) では多型スポットの同定に著しい時間と労力を必要とした。この点の改良のために、既知である全ゲノム塩基配列情報を用いてコンピューター上で *in silico* RLGS パターン (バーチャルパターン) を作成し、実際のパターン (リアルパターン) と比較した後、スポットを同定する「バーチャル RLGS システム」を開発した。これを利用し、バーチャルで出て、リアルパターンで出ないスポットを集めることで DNA メチル化領域マップを作成した。さらに、植物のみならず、マウスでのガン研究や ES 細胞での研究に利用し、ゲノム塩基配列情報の解読が進む微生物を中心としたゲノムワイドメチル化研究に応用展開を試みている。

3. 新規クロロフィル生合成系突然変異体の解析

(1) 新規クロロフィル生合成系突然変異体の解析 (松山)

ブラシノステロイド生合成阻害剤を用いたスクリーニングにより、緑化に関する新規の突然変異体が単離された。現在、遺伝解析に必要な系統作成や生化学的解析を進めている。

* テクニカルスタッフ

The entire nuclear genomic DNA sequences of the model plant: Arabidopsis and rice are known and plant genome science has changed the whole aspect of situation. Using their information, we have developed an *in silico* genome wide scanning system (Vi-RLGS system) and have applied to not only the analysis of plant mutants but also mouse and microorganism genome analysis. The rich knowledge of repeated sequence that is non-coding region have stored and found out the interesting Arabidopsis mutants of chlorophyll synthesis through the process of the above studies. We are applying the development of useful DNA markers for the resolution of various problems of plant variety protection (DNA marking) and the isolation of novel genic resources for the new phase of plant breeding.

1. DNA marking project

(1) Development of DNA markers of specific cultivar identification using repeated sequences (“DNA marking project”). We have started “DNA marking project” for cultivar identification of chrysanthemum, orchid and Japanese pear as the research project for utilizing advanced technologies in agriculture, forestry and fisheries.

2. Virtual RLGS system

(1) Application of *in silico* genome wide scanning (Vi-RLGS) system.
Restriction landmark genomic scanning (RLGS) is a powerful method for the systematic detection of genetic mutations in DNA length and epigenetic alteration due to DNA methylation. However, the identification of polymorphic spots is difficult because the resulting RLGS spots contain very little target DNA and many non-labelled DNA fragments. To overcome this problem, we developed a virtual image restriction landmark genomic scanning (Vi-RLGS) system to compare actual RLGS patterns with computer-simulated RLGS patterns (virtual RLGS patterns). Vi-RLGS has been used mainly in methylation studies of *Arabidopsis* and the mouse but could theoretically be applied to the genome of any organism, providing that genomic sequence information is available. In theory, this method allows the study of epigenetic changes caused by 5mC in all organisms, including mouse, plants and microorganisms. In fact, many actual RLGS spots of mouse genomic DNA have been verified, and the Vi-RLGS system is effective for epigenetic studies of tissue-specific differentially methylated regions and embryonic stem cells.

3. Molecular analysis of the novel chlorophyll synthesis mutants of Arabidopsis.

(1) Molecular analysis of the novel chlorophyll synthesis mutants of Arabidopsis.
Novel chlorophyll biosynthesis mutants of Arabidopsis were obtained from M2 pool induced by chemical (EMS) and physical (fast neutron) mutagens using the brassinosteroid biosynthesis inhibitor (Brz). We have started to analyze them by the technique of molecular genetics and biochemistry.

Staff

Head

Dr Tomoki MATSUYAMA

Members

Ms Tomoko MIYAJI*
Ms Harumi NAKABACHI*
Ms Yoko KATO*

*Technical staff