

■研究課題名

クロマチン構造と細胞周期制御による高等植物の高効率・高精度遺伝子操作技術の開発

■研究の目的

クロマチン構造と細胞周期の制御、人工制限酵素を含めたDNA切断酵素の利用を組み合わせることにより、高等植物の、高効率・高精度の遺伝子ターゲティング（GT）系を構築する。

■研究項目・実施体制（◎は研究を総括する者（研究代表者））

- ①クロマチン構造制御による高等植物の高効率・高精度遺伝子操作技術の開発
（◎土岐精一、刑部敬史、阿部清美、遠藤真咲、雑賀啓明／（独）農業生物資源研究所）
- ②細胞周期制御による相同組換えの効率化
（梅田正明、奥島葉子、原 千景／奈良先端科学技術大学院大学）
- ③ニワトリDT40細胞を利用した標的組換えを上昇させる方法のスクリーニングとその知見の植物での研究へのフィードバック
（武田俊一／京都大学）



土岐精一

■研究の内容・主要な成果

- ①シロイヌナズナとイネの細胞でzinc finger nucleases（ZFNs）を発現させ、ゲノム上の標的遺伝子を特異的に切断することに成功した。またZFNsを誘導的に発現させることで、標的遺伝子特異的に突然変異が導入されたシロイヌナズナを作出することに成功した。
- ②ニワトリDT40細胞を用いたモデル実験系において、メガヌクレアーゼによる標的遺伝子切断とExo1による削り込み処理が、GT効率を飛躍的に上昇させることを発見した。また、イネのモデルGT系においてこの効果を確認し、さらにZFNsとExo1を利用したイネ内在性遺伝子のGTにおいて、この系の汎用性を示した。
- ③相同組換え（HR）タンパク質の活性化と転写促進に関わる細胞周期制御因子の利用により、HRの効率を向上できることを見出した。

■今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①本研究で開発された標的遺伝子改変技術を活用すれば、今後農作物に有用な変異を計画的かつ効率的に導入することが可能になると考えられる。
- ②今後細胞周期制御の知見を導入することにより、GTの効率をさらに向上できると考えられる。
- ③本研究で開発された技術は、将来的には家畜のGTやヒトの遺伝子治療にも適用できる可能性がある。

■公表した主な特許・論文

- ①Osakabe K. *et al.* Site-directed mutagenesis in Arabidopsis using custom-designed zinc finger nucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 12034-12039 (2010)
- ②Kikuchi K *et al.* Bloom DNA helicase facilitates homologous recombination between diverged homologous sequences. *J. Biol. Chem.* 284: 26360-26367 (2009).
- ③Takatsuka, H. *et al.* The Arabidopsis cyclin-dependent kinase-activating kinase CDKF; 1 is a major regulator of cell proliferation and cell expansion but is dispensable for CDKA activation. *Plant J.* 59: 475-487 (2009)
- ④Endo M, *et al.* Molecular breeding of a novel herbicide-tolerant rice by gene targeting. *Plant J.* 52: 157-166 (2007).
- ⑤Kono, A. *et al.* The Arabidopsis D-type cyclin CYCD4 controls cell division in the stomatal lineage of the hypocotyl epidermis. *Plant Cell* 19: 1265-1277 (2007)

■研究成果の具体的図表

