

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

|   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 4 | 6 | 0 | 3 |
|---|---|---|---|---|

2. 研究機関名

奈良先端科学技術大学院大学

### 3. 研究種目名

### 若手研究(B)

#### 4. 補助事業期間

平成25年度～平成26年度

5. 課題番号

|   |   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 5 | 8 | 5 | 0 | 0 | 0 | 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|

6. 研究課題名

イネ遺伝子ターゲティング法を発展させた次世代育種技術の確立

## 7. 研究代表者

| 研究 者 番 号 |   |   |   |   |   |   |   | 研究 代 表 者 名 | 所 属 部 局 名   | 職 名 |
|----------|---|---|---|---|---|---|---|------------|-------------|-----|
| 3        | 0 | 5 | 7 | 4 | 7 | 0 | 1 | シマタニ ゼンバイ  | バイオサイエンス研究科 | 研究員 |
|          |   |   |   |   |   |   |   | 島谷 善平      |             |     |

## 8. 研究分担者

[illegible]

## 9. 研究実績の概要

本課題では、強力ポジティブ・ネガティブ選抜法によるイネ・遺伝子ターゲティング法を基に、遺伝子組換えの痕跡が残らない次世代植物育種技術（NBT）の開発を進める。遺伝子ターゲティング法と組み合わせるポジティブマーカー遺伝子削除機構として、トウモロコシのDNA型トランスポゾンAc/Dsを利用することとし、合成生物学的手法にて、イネに最適化した改変型Ac転移酵素遺伝子（AcTPase4x）とその標的配列Dsを製作した。次いで、イネゲノムにおける機能評価を目的として、改変型Ac/DsをGUSレポーターアッセイ用ベクターに組み込み、アグロバクテリウム法にてイネカルスへ導入した。イネカルスにおけるGUSレポーターの発現を解析した結果、AcTPase4xによるDsの削除を確認し、さらに時系列に沿ったAcTPase4xの発現変化を明らかにした。また、PCRおよびDNA塩基配列解析により、改変型Ac/Dsが人為配列を一切残さないポジティブマーカー遺伝子削除機構として利用可能であると実証できた。続いて、遺伝子ターゲティングベクターに改変型Ac/Dsを組み込んだ。このシステムでは2つの組み換え行程が順次進行し、相同組み換えによりゲノム上の標的遺伝子のDNA配列が任意改変された後、自律的に改変型Ac/Dsによるポジティブマーカー遺伝子削除が進行するため、一度の形質転換操作で標的遺伝子の改変が終了すると考えられる。そのため、上記システムを利用し、日本型イネ品種「金南風」のゲノム上に存在する耐病性遺伝子OsRacGEF1の機能向上を試みた。得られた改変体は、恒常活性化型OsRacGEF1タンパク質を発現して耐病性形質が向上すると予測されるため、病原菌接種試験等の評価を進める。

## 10. キーワード

### (1) 次世代植物育種技術

(2) イネ

### (3) 遺伝子ターゲティング

#### (4) 形質轉換

(5)

(6)

(7)

(8)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

( 1 / 3 )

## 11.研究発表

〔雑誌論文〕 計( 1 )件    うち査読付論文 計( 0 )件    (最終年度分)

| 著 者 名                                                                                              |  | 論 文 標 題                                                                                        |     |         |          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|---------|----------|
| Tamaki S, Tsuji H, Matsumoto A, Fujita A, Shimatani Z, Terada R, Sakamoto T, Kurata T, Shimamoto K |  | FT-like proteins induce transposon silencing in the shoot apex during floral induction in rice |     |         |          |
| 雑 誌 名                                                                                              |  | 査読の有無                                                                                          | 巻   | 発行年     | 最初と最後の頁  |
| Proc Natl Acad Sci USA                                                                             |  | 無                                                                                              | 112 | 2 0 1 5 | E901-910 |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)                                                                            |  |                                                                                                |     |         |          |
| 10.1073/pnas.1417623112                                                                            |  |                                                                                                |     |         |          |

〔学会発表〕 計( 0 )件    うち招待講演 計( 0 )件    (最終年度分)

| 発 表 者 名 |       | 発 表 標 題 |  |
|---------|-------|---------|--|
|         |       |         |  |
| 学 会 等 名 | 発表年月日 | 発 表 場 所 |  |
|         |       |         |  |

〔図書〕 計( 0 )件    (最終年度分)

| 著 者 名 |  | 出 版 社 |       |
|-------|--|-------|-------|
|       |  |       |       |
| 書 名   |  | 発行年   | 総ページ数 |
|       |  |       |       |

## 12.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計( 0 )件    (最終年度分)

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 出願年月日 | 国内・外国の別 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
|          |     |     |             |       |         |

(取得) 計( 0 )件 (最終年度分)

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 取得年月日 | 国内・外国の別 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
|          |     |     |             |       |         |
|          |     |     |             | 出願年月日 |         |
|          |     |     |             |       |         |

13.備考