

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19510206

研究課題名(和文) シロイヌナズナにおけるケミカルフェノームと新規表現型スクリーニング系の開発

研究課題名(英文) Feasible study of a phenome analysis using chemicals and a high throughput screening system in Arabidopsis

研究代表者

黒森 崇 (Kuromori Takashi)

独立行政法人理化学研究所・機能開発研究グループ・研究員

研究者番号：80332295

研究代表者の専門分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・応用ゲノム科学

キーワード：植物、シロイヌナズナ、ゲノム、フェノーム

### 1. 研究計画の概要

モデル植物シロイヌナズナは、遺伝子への挿入変異による変異体リソースが作成できるため、全ての遺伝子に関して一遺伝子破壊系統を作出することが可能である。このことはシロイヌナズナが多細胞生物のモデル生物系の中で Saturation Mutagenesis が可能な特異の系であると捉えることができる。一方、これまでに形態異常を指標とした網羅的な表現型観察が試みられた例はあるが、目視で見付けることが難しい表現型 (Non-visible Phenotypes) まで包括的に探索した表現型解析の研究例はない。そこで本研究課題では、シロイヌナズナの遺伝子破壊型変異系統を用いたフェノーム解析の発展型として、目視により見付けることが難しい条件的表現型 (Conditional Phenotypes) を効率的に調べる方法を確立することを目的とした。各遺伝子変異体の生育環境条件によって現れる表現型の探索と変異体ラインの化合物添加による新規表現型スクリーニング系の開発を目指している。

### 2. 研究の進捗状況

(1) トランスポゾンタグラインからのホモ挿入変異体 (遺伝子破壊系統) の選別

これまでに作製してきたモデル植物シロイヌナズナのトランスポゾンタグラインを基にして、遺伝子ドリブンな表現型探索を行うための新しい変異体リソースとして、遺伝子破壊型ラインの系統的な確立を行った。トランスポゾンの挿入変異が遺伝子コード領域内にホモの状態が存在する変異体ライン

の選別を進めた。現在までに、約 2,000 ラインのホモ挿入変異 (遺伝子破壊型) ラインを選抜して種子を使用できるように整えた。

(2) シロイヌナズナの変異体ラインを用いたハイスループット化合物応答試験の構築

化合物等を植物体に与えた場合に見られる表現型を多検体同時に探索するために、ハイスループットな化合物応答試験の構築に向けた検定実験を行った。植物の初期の育成段階である種子の発芽からその後の幼苗育成に関して、マルチ・タイター・プレートにおける生育の様子をスキャナーで取り込んで分析した。得られた画像データはデジタルファイルとして保存する。その後、プレートの各ウェル画像を切り取り、画像処理作業によって各植物体の生育状況を定量的データ化できることが分かった。

(3) 化合物応答の生育試験データの取得と新規変異体の選別

約 2,000 ラインの遺伝子破壊型トランスポゾンタグラインを用いて、植物ホルモン ABA と塩ストレス (NaCl) に関して、各々 3 種類から 4 種類の濃度の存在下での成長段階初期の生育状況データの取得を行った。得られたデータセットから新規変異体を選別した。

### 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

当初、目標としていたケミカルフェノームを実現するために様々な溶液や化合物を用

いた生物的（条件的）な表現型を調べる方法の開発に関して、種子発芽から初期育成時期に関してマルチ・タイター・プレートを使うハイスループットなストレス応答試験を構築することができた。さらに、実際にこの方法を用いて遺伝子破壊系統約2,000ラインに関する試験データが得られた。さらに、このデータセットから植物ホルモンへの感受性が変化する新規変異体を選別することができた。得られた新規変異体については解析を進めており、今回開発したシステムがフェノームデータの網羅的取得だけでなく、有用遺伝子の発見にも有効であることを示すことができた。

#### 4. 今後の研究の推進方策

(1) シロイヌナズナの変異体ラインを用いた各種の化合物応答試験のデータ取得

今回ハイスループットなストレス応答試験を構築できたことで、試すことができる条件は飛躍的に増え、化合物やストレス条件によるフェノーム解析を進めるにあたって可能性が大きく広がった。これまでに、約2,000ラインの遺伝子破壊型トランスポゾンタグラインを用いて、植物ホルモン ABA と塩ストレス (NaCl) に関してデータの取得を行ったが、それ以外にも例えば、各種の糖、活性酸素種、重金属イオン等についても試験可能な濃度を設定することができると考えている。

(2) 選別された新規変異体の解析とアブシジン酸トランスポーターの遺伝子機能解析

これまでに取得したデータセットから、植物ホルモンのアブシジン酸への感受性が変化する新規の変異体が見付かった。この変異体の原因遺伝子は、トランスポーターをコードしており、他の関連する遺伝子解析実験の結果も含めてアブシジン酸トランスポーターと考えられるため、その機能と役割を追究していく。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

- ① Kuromori T, Miyaji T, Yabuuchi H, Shimizu H, Sugimoto E, Kamiya A, Moriyama Y, Shinozaki K. ABC transporter AtABCG25 is involved in abscisic acid transport and responses. Proc. Natl Acad. Sci. USA 107, 2361-2366, 2010, 査読有
- ② Kuromori T, Takahashi S, Kondou Y, Shinozaki K, Matsui M. Phenome analysis in plant species using

loss-of-function and gain-of-function mutants. Plant Cell Physiol. 50, 1215-1231, 2009, 査読有

[学会発表] (計 26 件)

- ① Kuromori T. Systematic phenotype analysis of *Arabidopsis* *Ds*-tagged mutants to unravel gene functions in abiotic stress response as well as growth and development. International Symposium on Induced Mutations in Plants (ISIM), 12-15 August 2008, Vienna, Austria

[図書] (計 4 件)

- ① Kuromori T, Hirayama T. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. Molecular Plant Biology Handbook Series, The Handbook of Plant Mutation Screening: Mining of Natural and Induced Alleles. (Chapter 2) *Ds* transposon mutant lines for saturation mutagenesis of the *Arabidopsis* genome. 2010, pp17-30
- ② Kuromori T, Shinozaki K. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Induced Plant Mutations in the Genomics Era. Systematic phenotype analysis of *Arabidopsis* *Ds*-tagged mutants to unravel gene functions in abiotic stress response as well as growth and development. 2009, pp131-133

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: アブシジン酸輸送タンパク質を過剰発現する植物及びその作出方法

発明者: 黒森 崇、篠崎 一雄

権利者: (独) 理化学研究所

種類: 特願

番号: 2009-289457

出願年月日: 2009年12月21日

国内外の別: 国内

[その他]

プレスリリース

2010年1月19日

乾燥耐性を誘起する植物ホルモン「アブシジン酸」の輸送因子を発見

<http://www.riken.jp/r-world/info/release/press/2010/100119/index.html>

ホームページ

[http://labs.psc.riken.jp/gdrg/index.html#g\\_project2](http://labs.psc.riken.jp/gdrg/index.html#g_project2)