

***GmPPD*遺伝子の変異とダイズの組織巨大化に関する研究**

生物資源科学専攻 植物育種学講座 植物遺伝資源学 沈載哲

1. 緒言

植物の巨大化はバイオマスの増大につながる重要な農業形質になりうる。組織の巨大化は、細胞分裂や細胞膨張によって引き起こされる。PEAPOD (PPD)は過去のRNAi研究においてダイズの巨大化を誘導する因子として知られているがその遺伝子の欠失によって生じる表現型に関する知見は極めて少ない。本研究ではCRISPR/Cas9システムを用いて2つのPPDホモログに変異を誘導したダイズの表現型を比較する事でその特徴付けを行った。また、莢における表現型を決定する機序を明らかにするためトランスクリプトーム解析も併せて行った。

2. 方法

実験I CRISPR/Cas9システムによってゲノム編集された系統についてPPDのホモログ遺伝子である*GmPPD10G*と*GmPPD20G*について誘導された変異の種類(フレームシフトおよびインフレームシフト変異)をCAPSおよびシーケンス解析で特定し遺伝子型ごとに系統を分け、各系統の種子重、初生葉の面積、葉表皮における気孔数、各生育段階へ到達するまでにかかった日数を計測し各系統の表現型を比較した。

実験II R3~R4期の発育段階にある莢を採集しRNAを抽出、TUXEDOパイプラインでトランスクリプトーム解析を行った。トランスクリプトーム解析によって抽出された発現変動遺伝子の中で遺伝子オントロジー解析を通して細胞分裂に関わっていると考えられる遺伝子を選定し、それらの遺伝子について定量RT-PCRによって発現量を解析した。

3. 結果および考察

*GmPPD10G*および*GmPPD20G*変異の種類によって表現型は大きく異なった。例えば、*GmPPD10G*にフレームシフトそして*GmPPD20G*にインフレームシフト変異が誘導された系統は、種子の巨大化、初生葉の巨大化並びに葉の気孔数の減少が認められた。これらの系統における生育期間は野生型個体と差異はなかった。一方、*GmPPD10G*にインフレームシフトそして*GmPPD20G*にフレームシフト変異が誘導された個体は、ほぼ野生型と同じ表現型、同じ成長速度を示した。また、*GmPPD10G*および*GmPPD20G*の両遺伝子にフレームシフト変異を持つ個体は初生葉から第一本葉展開までの生育期間において大きな遅延が認められた。また、本葉は大きく湾曲し、莢は大きく歪な形になった。本研究では、莢における表現型の違いを理解するためトランスクリプトーム解析を行い発現変動遺伝子の確認をした。莢の巨大化に関する遺伝子を選定することはできなかったが、歪な莢の形成にはアラビドプシスの研究において細胞分裂に関連していること知られている*SPIRAL1 (SPL1)*, *GRF1*, *PACLOBUTRAZOL RESISTANCE 1 (PRE1)*, *GIBBERELLIN-REGULATED PROTEIN 12*などの遺伝子の発現が変動していることが確認された。そこで、これらの遺伝子のいくつかについて発現解析をおこなったところ、両遺伝子にフレームシフト変異を持つ系統では野生型個体に比べ*SPL1*の発現量が低下し、*GRF1*の発現量が有意に増加していた。よって、両遺伝子にフレームシフト変異を持つ個体における歪な莢の形態はこれらの遺伝子発現が変化すること起因することが考えられた。