

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

2020年4月1日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 埼玉大学大学院理工学研究科  
 職 名 助教  
 研究代表者名 吉原亮平

下記のとおり2019年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号:191008)

1. 共同利用研究 課題名	DSB 修復機構が <i>Rhizobium radiobacter</i> による植物への遺伝子導入に与える影響			
2. 共同利用研究 目的	植物の持つ DNA 修復機構が <i>Rhizobium radiobacter</i> による植物染色体 DNA への遺伝子挿入に果たす役割を明らかとし、その遺伝子挿入を人為的に操作する手法の開発を目指す。			
3. 共同利用研究 期間	2019年7月1日 ~ 2020年3月31日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 吉原 亮平	埼玉大学大学院理工学研究科	助教	コンストラクト作製 遺伝子解析	
(分担研究者)				
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル分子応答研究部門 環境物質応答研究分野	氏 名	乾 秀之

※ 次の6~9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6~9の項目全体では1頁に収めて下さい。

## 6. 共同利用研究計画

*Rhizobium radiobacter* (*R. radiobacter*) は古くから植物病原細菌であるアグロバクテリウムとして知られている。この細菌は Ti-plasmid を持ち、感染時に Ti-plasmid 上の Left Border (LB) と Right Border (RB) に挟まれた T-DNA 領域を植物の染色体 DNA に挿入する性質がある。この性質を利用した *R. radiobacter* による植物への遺伝子導入は、植物の形質転換法として確立されている。T-DNA の染色体 DNA への挿入には、DSB 修復機構である NHEJ (非相同末端結合)、HR (相同組換え修復) そして MMEJ (マイクロホモロジー媒介末端結合) などに関わると考えられてきたが、その詳細は未だ明らかとなっていない。

本研究では、主要な DSB 修復機構である NHEJ の T-DNA 挿入に果たす役割を解析することとした。まず、野生株と NHEJ 欠損株に *R. radiobacter* を介して遺伝子導入を行い、T-DNA の LB 側および RB 側と植物染色体 DNA との結合部位の配列をアダプターPCRにより解析する。得られた配列の違いを比較することで、NHEJ と T-DNA 挿入の関りを明らかとする。

## 7. 共同利用研究の成果

本共同研究から、T-DNA の LB 側と RB 側の染色体 DNA への結合に対して、NHEJ は必須ではないことが示された。しかし、NHEJ が欠損することで、T-DNA の LB 側が転写開始位置付近に挿入される傾向が見られ、NHEJ が機能することで T-DNA が植物の染色体 DNA のランダムな位置に挿入されることが示唆された (図 1)。また、LB 側は NHEJ が機能することで、より安定に染色体 DNA との結合が行われる可能性も示された。これらの結果から、*R. radiobacter* を介した T-DNA 挿入は NHEJ 以外の DSB 修復経路が主経路として機能するが、LB 側の結合過程において NHEJ が機能することで、より効率的な挿入が行われるものと考えられる。

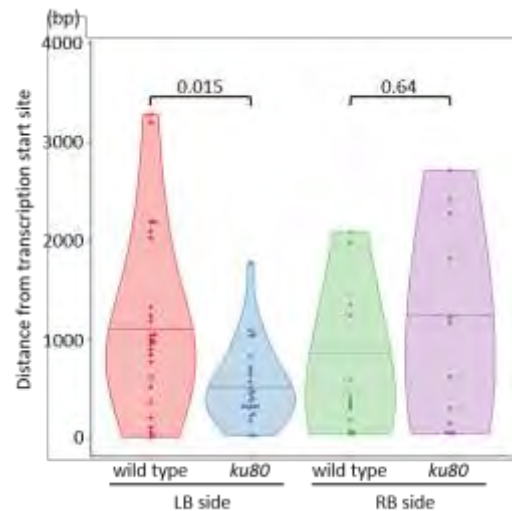


図 1 T-DNA 挿入部位から最も近い転写開始位置までの距離

## 8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

### [論文発表]

1. **Yoshihara R**, Mitomi Y, Okada M, Shibata H, Tanokami M, Nakajima Y, **Inui H**, Oono Y, Furudate H, Tanaka S. (2020) Effects of *Arabidopsis* Ku80 deletion on the integration of the left border of T-DNA into plant chromosomal DNA via *Agrobacterium tumefaciens*. *Genes and Genetic Systems*. in press

### [学会発表]

1. DNA 二本鎖切断修復機構 NHEJ が *Rhizobium radiobacter* による遺伝子導入に与える影響  
中嶋友里絵、岡田真希、柴田晴菜子、大野豊、**乾秀之**、田中秀逸、**吉原亮平**  
第 42 回 日本分子生物学会年会 (2019 年 12 月)

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

該当なし