実験植物開発室

Experimental Plant Division



室長 **小林 正智**(農博) Masatomo KOBAYASHI, Ph.D.

ミッションと事業概要

当室はナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) に参加し、代表的なモデル実験植物のシロイヌナズナ (図1)を中核とした植物個体、遺伝子、細胞リソースの収集・保存・提供事業を進めている。またリソースの保存技術の開発や特性情報の付加による価値の向上、そして応用研究にシロイヌナズナを活用するための戦略の確立を試みている。これらの事業により当室は、環境、食料、資源など地球規模の問題の解決に貢献する。

The Experimental Plant Division joins with National BioResource Project (NBRP) and collects, preserves and distributes plant seeds, plant DNA and plant cultured cells. We also develop novel technologies on the establishment, preservation and characterization of plant resources. Establishment of strategies on the utilization of Arabidopsis in the applied research is also carried out. We intend to contribute researches on environment, food and production of useful materials.

バイオリソースの収集・保存・提供 Collection, Preservation and Distribution

(1) 植物リソースの収集

我が国で開発されたリソースの収集を進めている。平成23年度はシロイヌナズナFOXライン (シロイヌナズナ完全長cDNA強制発現系統)、寄生植物のStriga hermonthicaの完全長cDNAクローン、ブドウ培養細胞株などの収集を進めた。

(1) Collection of plant resources

Arabidopsis resources such as Arabidopsis FOX lines (over-expresser of Arabidopsis full-length cDNA), full-length cDNA clones of *Striga hermonthica* (parasitic plant) and a cultured cell line of grape were collected in 2011.

(2) 植物リソースの保存

・種子リソースの保存

収集後に増殖したシロイヌナズナ種子を低温、低湿の保管庫で保存し、一定期間毎に発芽試験を行っている。平成23年度もシロイヌナズナFOXラインの増殖と表現型の観察を行い、得られた種子の保存を進めるとともに、イネの完全長cDNAをシロイヌナズナに導入したFOXラインの栽培も続けている。

・遺伝子リソースの保存

超低温フリーザーによる遺伝子リソースの保存を行っている。また寄託後10年が経過しつつあるシロイヌナズナ完全長cDNAクローンについて、NBRPの支援により開発した技術の適用によりバックアップ用リソースの作成を進めた。作成済みのバックアップリソースは、超低温フリーザーを使用

せずに冷蔵環境で保存している。

・培養細胞リソースの保存

保有する細胞株の生細胞による維持を行っている。当室で開発した超低温保存技術について、遠隔地でのバックアップ保存に向けた準備作業を開始した。

(2) Preservation and quality control

- Seed

Arabidopsis seeds are stored at 4° C, 20% relative humidity. Germination ratio of the seeds is examined periodically. Cultivation and phenotype observation of Arabidopsis FOX lines (both Arabidopsis and rice cDNA over-expresser) were carried out throughout the term.

· DNA

Plant cDNA clones are stored at -80°C. Backup stocks of Arabidopsis full-length cDNA clones are stored at 4°C using the technology established under the support from NBRP.

· Cultured cells

Cultured cell lines of model plants are continuously maintained as living cells. Simple cryopreservation technology developed in the Division is now going to be applied to the suspension cell line of Tobacco for long-term storage.

(3) 植物リソースの提供

・種子リソースの提供

トランスポゾンタグライン(遺伝子破壊系統)、アクティベーションタグライン(スクリーニング用)、FOXライン(スクリーニング用)、SASSC由来野生系統・近縁種の提供を行っている。平成23年度も付加価値向上のためトランスポゾンタ

図 1 事業の中核、モデル実験植物シロイヌナズナ

Fig.1 Model experimental plant, Arabidopsis thaliana



グラインのホモ系統の整備を進めた。なお、トランスポゾン タグラインの提供に際しては、挿入位置の確認に加えトラン スポゼースの残存検査を実施している。

・遺伝子リソースの提供

シロイヌナズナ、ヒメツリガネゴケ、ポプラ、キャッサバ、タバコ、ハクサイ、Thellungiella halophilaのcDNAリソースを提供している。平成23年度は新規に収集した寄生植物Striga hermonthicaの完全長cDNAクローンについて、カタログを新たに作成して公開した。

・培養細胞リソースの提供

シロイヌナズナ、タバコ、イネ、ミヤコグサなどモデル植物の懸濁培養細胞株を中心に国内への提供を実施している。シロイヌナズナT87細胞株は海外にも提供した。宣伝に努めた結果、平成23年度の植物培養細胞の提供数は過去最高を記録した。

(3) Distribution of plant resources

· Seeds

Seeds of transposon-tagged lines, activation tagged lines, Arabidopsis FOX lines, natural accessions and individual mutants are distributed to the world. In 2011, the available numbers of homozygous seed stocks of transposon-tagged lines and the seed pool sets of Arabidopsis FOX lines were increased. Before shipments of transposon-tagged lines, we confirm the insertion site of Ds element (transposon) as well as the absence of Ac transposase gene to prevent further transpositions of Ds element.

- DNA

We distribute full-length cDNA clones of Arabidopsis, moss, poplar, cassava, tobacco, Chinese cabbage and *Thellungiella halophila*. In 2011, we started distribution of full-length cDNA clones of *Striga hermonthica*, which is a serious parasitic plant in developing countries.

· Cultured cells

Cell lines of model plants such as Arabidopsis, tobacco, rice and Lotus are distributed to the domestic researchers. Arabidopsis T87 cell line is shipped to overseas countries also. We had a record number of plant cultured cell lines distributed to the community in 2011.

16 RIKEN BRC Annual Report 2011~2012

平成23年度の成果 Development of Technology in 2011-2012

(1) 植物培養細胞株・遺伝子リソースの保存技術の 開発

NBRP基盤技術整備プログラム「遺伝子資源の長期保存 に関する基盤整備技術の開発」の課題により開発したcDNA の冷蔵保存技術の保存後3年目の評価を実施し、37℃下で の保存でも完全な復元が可能であることを確認した。

(1) Preservation technology of cultured cells and **DNA** materials

We have developed the long-term storage technology of cDNA clones under the support from NBRP. This year, the regeneration of cDNA clones after three-year storage at 37°C was carried out to examine the effectiveness of the technology. As a result, we succeeded in regenerating all clones tested.

(2) シロイヌナズナ野生系統のデータベースの開発

平成23年度はトランスポゾンタグラインの親系統について 遺伝型解析を行い、親株のうちの2系統について開発者が 報告したNossen株と遺伝子型が異なることが明らかになっ た。解析結果はホームページ、メイルニュース等を通じて利 用者に周知した。

(2) Development of database for natural accessions of Arabidopsis

We develop technologies for genotype characterization of Arabidopsis natural accessions preserved in RIKEN BRC, and store the data in a database. Using the technologies, we examined the genotype of the parental lines for Arabidopsis transposon-tagged lines (Nossen background). As a result, we found that the genotype for two parental lines is inconsistent with Nossen, and we reported this information to users via homepage and e-mail.

(3) シロイヌナズナを活用した作物研究戦略の確立

国際連携によるハクサイの全ゲノム解読の成果がNature Geneticsに報告された。本論文中では、岡山県生物科学研 究所との共同研究により開発した完全長cDNAの情報がアノ テーションに使われた。また応用研究コミュニティによる病 虫害防除技術の開発にシロイヌナズナを活用することをめざ し、中央農業総合研究センターと連携して研修事業を立ち 上げ、参加者の募集を開始した。

(3) Genomic research on crops that utilizes Arabidopsis resources, tools and information

Through the collaboration with Research Institute for Biological Science, Okayama, we have developed full-length cDNA clones of Brassica rapa. The clone information was applied to the genome annotation of B. rapa, and the results were reported in Nature Genetics published in this year. Furthermore, we started

a training project under the collaboration with National Agricultural Research Center to promote studies on plant-microbe/insect interaction using Arabidopsis.

(4) バイオマス研究の基盤整備

草本のモデル、ミナトカモジグサ (Brachypodium distachyon) の栽培と形質転換の条件について検討している。 平成23年度は栽培条件を最適化した結果、安定した発芽率 を示す種子を収穫することが可能になった。またパーティク ルガン法による遺伝子導入の系を確立して効率の評価を行 うとともに、Agrobacterium法についても検討を開始している。

(4) Establishment of resource infrastructure for biomass research

We develop technologies for cultivation and transformation of a model grass, Brachypodium distachyon. In 2011, we established the conditions for propagation of seeds with good quality. We also developed a transformation protocol using particle bombardment and now evaluating its efficiency.

平成23年度のトピックス Topics in 2011-2012

- ①GE Healthcare Bio-Sciences 社とのライセンス契約が締結さ れたことを受け、GFP遺伝子を導入して液胞膜、アクチ ン繊維、微小管を蛍光標識したタバコBY-2培養細胞株 の提供を開始した。(図2) これらはユーザーが興味を持つ 遺伝子産物 (タンパク質) が細胞内のどの器官に局在す るかを調べる際に有用な細胞株である。
- ②シロイヌナズナFOXラインのスクリーニング用プール種子 4,796系統分(シロイヌナズナ遺伝子過剰発現系統)、及 び2,000系統分(イネ遺伝子強制発現系統)を新たに公開 し利用者に提供した。従来提供してきたアクティベーショ ンタグラインに加え、質・量ともに豊富なリソースが整備 された結果、プール種子の提供数は過去最高を記録した。
- 1) We started distributing transgenic tobacco BY-2 cell lines in which vacuolar membrane, actin filaments and cortical microtubules are labeled with GFP. (Fig. 2) These cell lines are valuable for testing cellular localization of interested proteins.
- ②Additional seed pools of Arabidopsis FOX lines (4,796 lines for Arabidopsis cDNA over-expresser, and 2,000 lines for rice cDNA over-expresser) became open for distribution. As a result, the number of seed pools (including those mentioned above) distributed in 2011 reached highest record since beginning of the project.

図2 微小管が光る組換えタバコBY-2 培養細胞

Fig.2 Transgenic tobacco BY-2 cells: microtubules are highlighted by fluorescent protein



職員とメンバー構成 Members -

- ●室長[Head of Experimental Plant Division] 小林 正智 Masatomo KOBAYASHI, Ph.D.
- ●専任研究員[Senior Research Scientist] 安部 洋 Hiroshi ABE, Ph.D. 井内 聖 Satoshi IUCHI, Ph.D. 小林 俊弘 Toshihiro KOBAYASHI, Ph.D.
- ●特別研究員[Junior Fellow] 氷室 泰代 Yasuyo HIMURO, Ph.D. (バイオマス研究基盤チーム Biomass Research Platform Team)
- ●テクニカルスタッフ || [Technical Staff II] 石山 賀奈子 Kanako ISHIYAMA 佐々木一誠 Issei SASAKI 内田智子Tomoko UCHIDA 蔀有里Yuri SHITOMI 井内 敦子 Atsuko IUCHI 森文江 Fumie MORI 阿相幸恵 Yukie ASO 川村 節子 Setsuko KAWAMURA 菅原 真由美 Mayumi SUGAWARA
- ●アシスタント[Assistant] 太田 しおり Shiori OTA
- ●客員主管研究員[Senior Visiting Scientist] 後藤 伸治 Nobuharu GOTO, Ph.D.
- ●客員研究員[Visiting Scientist] 富高 保弘 Yasuhiro TOMITAKA, Ph.D.
- ●派遣職員[Agency Staff] 村杉 篤子 Atsuko MURASUGI 山本 亜紀 Aki YAMAMOTO
- ●パートタイマー [Part-Timer] 赤石 みどり Midori AKAISHI 糸川 富美代Fumiyo ITOKAWA 遠藤 理栄子 Rieko ENDO 木皿 由美子 Yumiko KISARA 午菴 睦美 Mutsumi GOAN 関口紀子Noriko SEKIGUCHI 根本久江Hisae NEMOTO 秦香 Kaori HATA

安部 直美 Naomi ABE 小山 由美子 Yumiko KOYAMA 坂倉 まさみ Masami SAKAKURA 松田 厚子 Atsuko MATSUDA



RIKEN BRC Annual Report 2011~2012