

(独) 農業生物資源研究所 特待研究員

大橋 祐子

「遺伝子の不活化・活性化を通じた植物の生体制御」

## 1. 研究実施の概要

植物は病傷害に対する独自の自己防御機構を有している。この機構を研究し、遺伝子組換えにより人為的に植物の自己防御力を強化させた植物を作ることが出来れば、それは省農薬・省労力で育つ耐病性・耐ストレス植物となる。このような有用植物は地球環境の保全や食糧増産のために必要であり、その作出に関する基礎研究の進展が期待されている。しかし、外来遺伝子を導入して有用植物を作っても、導入遺伝子が徐々に働かなくなる“遺伝子不活性化現象”が頻繁に起こるので問題となっている。また、一度不活性化した遺伝子がまた働くようになる現象も知られている。そこで我々は、この問題を解決するために植物における遺伝子の不活性化・活性化の機構を明らかにし、得られた知見を安定した有用組換え植物作出に役立てようと考えた。本研究はこの分野で研究実績のある3グループにより、以下のように課題を分担して行われた。

植物における遺伝子の不活性化には、主にプロモーター領域がメチル化される「転写抑制型タイプ (TGS)」と、転写が起こっているのに mRNA が分解される「転写後タイプ (PTGS)」が知られる。大橋グループが植物特有の自己防御機構である過敏感細胞死とこれに伴う誘導抵抗性の機構を“遺伝子の活性化・不活性化”といった点からとらえて研究すると共に、導入遺伝子の PTGS の機構を解析した。角谷グループは DNA のメチル化による遺伝子の不活性化を“メチル化の変異株”を用いて分子遺伝学的に解析し、また、佐野グループは“植物における DNA メチル化の機構とその意義を明らかにする”ため独自の系を用いて研究を行った。ここで得られた研究成果は多くの重要新規知見を含み、植物の自己防御機構が個体、組織、細胞のみならず核酸レベルでも巧妙に制御されていることを示した。これらの知見は、外来・内在遺伝子の発現制御技術のみならず、有用組換え植物作出のために役立てられる。

### [大橋グループ]

過敏感細胞死は、病原体に感染した細胞の自殺であり、病原体を感染部位に局在化させ全身に蔓延させないための植物特有の自己防御機構である。この細胞死は、生き残った健全組織を再感染から守るため、植物体全身にさらなる病害抵抗性を誘導する。この全身獲得抵抗性は、高等動物のような免疫系を持たない植物にとって大変重要である。同調的な過敏感細胞死誘導系を用い、細胞死が起こる前にその発現が抑制あるいは活性化される遺伝子の機能解析を行い、過敏感細胞死には、光合成装置である葉緑体が重要な働きをすること、カルモジュリンが誘導抵抗性に関与することなど、多くの新規知見を得た。また、全身抵抗性誘導のシグナル物質とされるサリチル酸が、PTGS を誘発させることでウイルス核酸の特異的分解を促進しウイルス抵抗性を誘導すること、を発見した。さらに、いままでも PTGS がその植物当代限りの現象で後代には伝わらないことの原因は“減数分裂ないしは受精などの特定のステージで解除される”ためと言われていたが、実は“PTGS は細

胞分裂によってリセットされ、種子では生殖細胞に分化する以前に行われていた活発な細胞分裂によって PTGS がすでに解除されており、PTGS が伝えられる前に親細胞から隔離されるために、次世代に PTGS が伝わらない”ことを示した。

#### [角谷グループ]

DNA メチル化を伴う遺伝子不活性化を解除するシロイヌナズナ突然変異 *ddm1* (*decrease in DNA methylation*) を用いて、植物における DNA メチル化と遺伝子不活性化の役割を調べた。この突然変異下で誘導される発生異常を遺伝解析することにより、*ddm1* 突然変異下で特異的に転移するトランスポゾン *CAC1* と、この突然変異下で異所的に発現して発生異常を引き起こす遺伝子 *FWA* を同定した。これによって、DNA メチル化を伴う遺伝子不活性化が、植物遺伝子の適切な発現を保証するだけでなく、トランスポゾンを抑制することによりゲノム構造の維持にも貢献することが明らかにできた。現在この研究は、遺伝子不活性化に影響する種々の突然変異や遺伝環境における *CAC1* と *FWA* の活性解析へと進展している。これらの研究によって、「epigenetic な遺伝」(塩基配列の変化を伴わない染色体情報の遺伝)の「ゲノム防御」と「個体発生」における役割の分子レベルでの解明を達成しつつある。

#### [佐野グループ]

高等動植物の DNA は修飾塩基として 5-メチルシトシンを含む。その量は高等植物では全塩基の 3-7%に及ぶ。生理作用にはまだ不明の所が多いが、主に遺伝子の発現調節に関与し、植物の自己防御に働いている可能性が指摘されている。ここでは“DNA メチル化の生理作用”を総合的に理解するために、以下に示すような課題をたて多くの成果を得た。

(1) 緑藻の葉緑体の母性遺伝のしくみの解析：DNA のメチル化により制御されていることを証明、(2) 植物からの 3 種の DNA メチル化酵素遺伝子の単離とその特性解析、メチル化 DNA の生理機能解析、(3) 環境変化に応答した DNA メチル化レベルの変動と遺伝子発現制御、(4) DNA メチル化の人工操作による有用植物の分子育種。これらの結果は、最近、注目を集めている epigenetic 遺伝の植物における実態を明らかにしたもので、角谷グループの成果とあわせ、実用的な分子育種にも応用可能な重要な知見を含んでいる。

## 2. 研究構想

大地に根を張って生きる植物は、野外での病虫害の攻撃、風雨・傷害などの過酷なストレスを克服して生きてきた。このストレス応答の機構こそ、地上に生き残るための植物の重要な自己防御のしくみと考えられるが、植物には高等動物の持つ病原体や異物の侵入から身を守るための高度に発達した免疫系が欠落している。そこで、これに代わる植物の自己防御のしくみを調べ、ここで得られた知見や遺伝子を利用して植物の自己防御力を強化させた遺伝子組換え植物を作ることができれば、これらは省農薬・省労力で育つ耐病性・

耐ストレス植物として国民から歓迎されるものと考えられる。

しかし、遺伝子組換え植物作出にあたって、当初働いていた導入遺伝子が働かなくなる、すなわち遺伝子の不活性化（gene silencing）が頻繁に起こることが問題となっている。そこで、本課題では、“植物の自己防御のしくみを調べる”とともに、導入遺伝子の不活性化を如何に抑えてその安定な発現を保証できるか、その方法を開発するため、“植物における広義の遺伝子の不活性化と活性化の機構”を研究する。これらの研究は、個体、組織、細胞、核酸レベルでの植物の自己防御機構に関して新たな基礎知見をもたらすものであり、かつ応用的にも重要である。

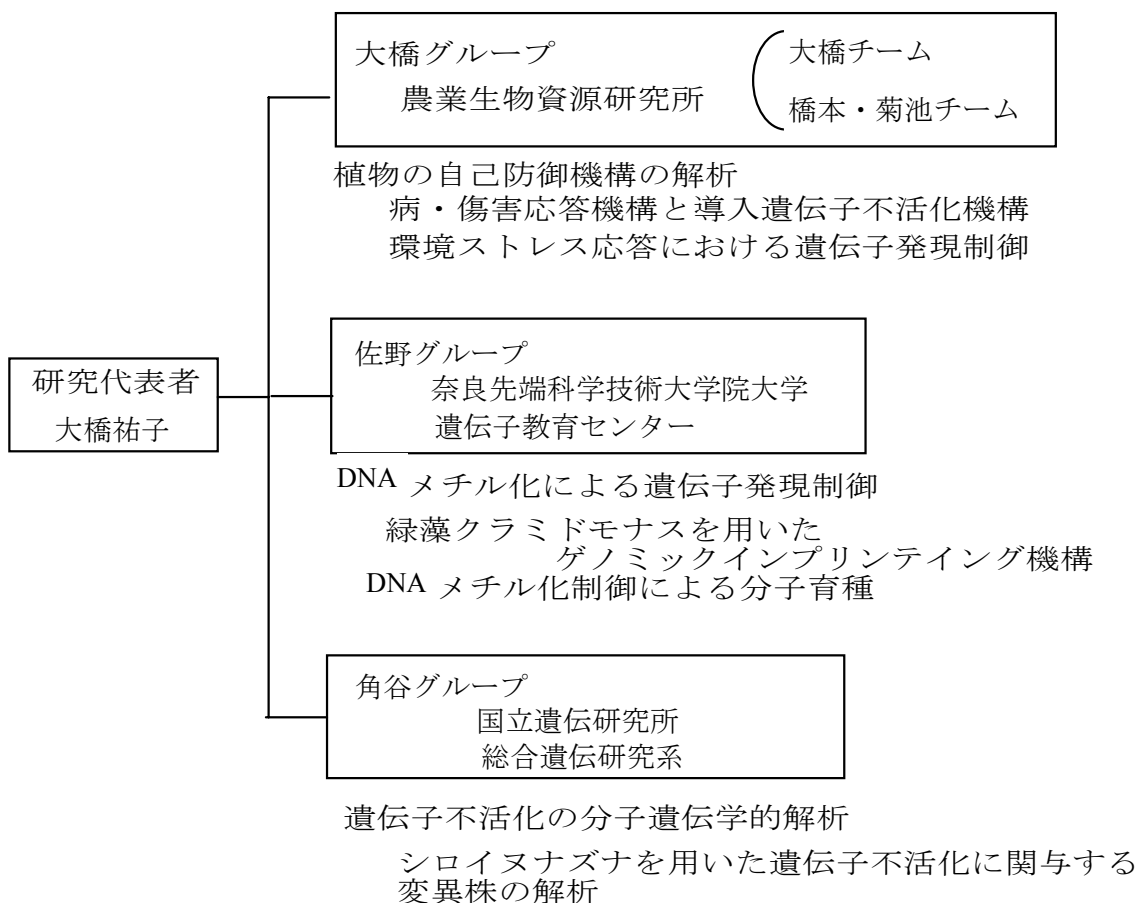
以上は研究開始時に目指した目標であるが、その後の展開から、“耐病性、ストレス耐性モデル植物作成”など当初の計画を上回る目標も設定され、実行された。研究分担は当初の計画通りで、順調に研究が進められた。

研究分担：大橋グループは、植物の自己防御の機構を病傷害ストレス応答に焦点をあてて解析すると共に、導入遺伝子の不活性化と再活性化の機構を組換えタバコをモデル植物として調べる。また、耐病性・耐ストレス組換え植物作出を試みる。角谷グループは、DNAメチル化に関するシロイヌナズナ変異株中で誘発される発生異常を連鎖解析するという独自のアプローチを用いて、遺伝子の不活性化を介した植物のストレス応答機構を含め、DNAメチル化による遺伝子発現制御の機構を分子遺伝学的手法により解析する。佐野グループは、植物におけるDNAメチル化の意義を総合的に理解するため、緑藻を用いた葉緑体の母性遺伝の機構や植物のDNAメチル化酵素遺伝子の網羅的単離とその特性を調べる。また、環境変化によるDNAメチル化の変動を解析すると共にDNAメチル化を利用した分子育種の可能性を探る。

### 3. 研究実施体制

#### (1) 体制

遺伝子の不活化・活性化を通じた生体制御



### 4. 研究期間中の主な活動

#### (1) ワークショップ・シンポジウム等

| 年月日                      | 名称  | 場所   | 参加人数  | 概要                   |
|--------------------------|---|--|-------|----------------------|
| 2000. 11. 16<br>- 11. 17 | NIAR-COE/BRAIN/CREST<br>International Symposium<br>“Self-defense signaling pathways<br>in plants” | Tsukuba<br>International<br>Congress<br>Center | 260 名 | 口頭発表 20<br>ポスター発表 46 |

## 5. 主な研究成果

(1) 論文発表 (国際 61 件)

### 大橋グループ

1. Niki, T., Mitsuahara, I., Seo, S., Ohtsubo, N. and Ohashi, Y. (1998). Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves. *Plant Cell Physiol.* 39, 500-507.
2. Yamakawa, H., Kamada, H., Satoh, M. and Ohashi, Y. (1998). Spermine is a salicylate-independent endogenous inducer for both tobacco acidic pathogenesis-related proteins and resistance against tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiol.* 118, 1213-1222.
3. Okamoto, M., Mitsuahara, I., Ohshima, M., Natori, S. and Ohashi, Y. (1998). Enhanced expression of an antimicrobial peptide sarcotoxin IA by GUS fusion in transgenic tobacco plants. *Plant Cell Physiol.* 39, 57-63.
4. Ohshima, M., Mitsuahara, I., Okamoto, M., Sawano, S., Nishiyama, K., Kaku, H., Natori, S. and Ohashi, Y. (1999). Enhanced resistance to bacterial diseases of transgenic tobacco plants overexpressing sarcotoxin IA, a bactericidal peptide of insect. *J. Biochem.* 125, 431-435.
5. Mitsuahara, I., Malik, K.A., Miura, M. and Ohashi, Y. (1999). Animal cell-death suppressors Bcl-xL and Ced-9 inhibit cell death in tobacco plants. *Curr. Biol.* 9, 775-778.
6. Ito, N., Seo, S., Ohtsubo, N., Nakagawa, H. and Ohashi, Y. (1999). Involvement of proteasome-ubiquitin system in wound-signaling in tobacco plants. *Plant Cell Physiol.* 40, 355-360.
7. Seo, S. and Ohashi, Y. (1999). Mitogen-Activated protein kinases and wound stress. *Results and Problems in Cell Diff.* 27, 53-63.
8. Seo, S., Sano, H. and Ohashi, Y. (1999). Jasmonate-based wound signal transduction requires activation of WIPK, a tobacco mitogen-activated protein kinase. *Plant Cell* 11, 289-298.
9. Hiraga, S., Ito, H., Matsui, H., Honma, M. and Ohashi, Y. (1999). cDNA Sequences for two novel tobacco peroxidase isoenzymes. *Plant Physiol.* 120, 1205-1207.
10. Ohtsubo, N., Mitsuahara, I., Koga, M., Seo, S. and Ohashi, Y. (1999). Ethylene promotes the necrotic lesion formation and basic PR gene expression in TMV-infected tobacco. *Plant Cell Physiol.* 40, 808-817.
11. Ueda, T., Seo, S., Ohashi, Y. and Hashimoto, J. (2000). Circadian and senescence-enhanced expression of a tobacco cysteine protease gene. *Plant Mol. Biol.* 44, 649-657.
12. Hiraga, S., Yamamoto, K., Ito, H., Sasaki, K., Matsui, H., Honma, M., Nagamura, Y., Sasaki, T. and Ohashi, Y. (2000). Diverse expression profiles of 21 rice peroxidase genes. *FEBS Lett.* 471, 245-250.
13. Seo, S., Okamoto, M., Iwai, T., Iwano, M., Fukui, K., Isogai, A., Nakajima, N. and Ohashi, Y. (2000). Reduced levels of chloroplast FtsH protein in tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves accelerate the hypersensitive reaction. *Plant Cell* 12, 917-932.
14. Fujibe, T., Watanabe, K., Nakajima, N., Ohashi, Y., Mitsuahara, I., Yamamoto, K.T. and Takeuchi, Y. (2000). Accumulation of pathogenesis-related proteins in tobacco leaves irradiated with UV-B. *J. Plant Res.* 113, 387-394.
15. Hiraga, S., Ito, H., Sasaki, K., Yamakawa, H., Mitsuahara, I., Toshima, H., Matsui, H., Honma,

- M. and Ohashi, Y. (2000). Wound-induced expression of a tobacco peroxidase is not enhanced by ethephon and suppressed by methyl jasmonate and coronatine. *Plant Cell Physiol.* 41, 165-170.
16. Fukuoka, H., Ogawa, T., Mitsuhashi, I., Iwai, T., Isuzugawa, K., Nishizawa, Y., Gotoh, Y., Nishizawa, Y., Tagiri, A., Ugaki, M., Oshima, M., Yano, H., Murai, N., Niwa, Y., Hibi, T. and Ohashi, Y. (2000). *Agrobacterium*-mediated transformation of monocot and dicot plants using the NCR promoter derived from soybean chlorotic mottle virus. *Plant Cell Rep.* 19, 815-820.
  17. Kodama, H., Nishiuchi, T., Seo, S., Ohashi, Y. and Iba, K. (2000). Possible involvement of protein phosphorylation in the wound-responsive expression of *Arabidopsis* plastid  $\omega$ -3 fatty acid desaturase gene. *Plant Sci.* 155, 153-160.
  18. Hiraga, S., Ito, H., Yamakawa, H., Ohtsubo, N., Seo, S., Mitsuhashi, I., Matsui, H., Honma, M. and Ohashi, Y. (2000). An HR-induced tobacco peroxidase gene is responsive to spermine, but not to salicylate, methyl jasmonate, and ethephon. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 13, 210-216.
  19. Kosugi, S. and Ohashi, Y. (2000). Cloning and DNA-binding properties of a tobacco Ethylene-Insensitive3 (EIN3) homolog. *Nucl. Acids Res.* 28, 960-967.
  20. Mitsuhashi, I., Matsufuru, H., Oshima, M., Kaku, H., Nakajima, Y., Murai, N., Natori, S. and Ohashi, Y. (2000). Induced expression of sarcotoxin IA enhanced host resistance against both bacterial and fungal pathogens in transgenic tobacco. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 13, 860-868.
  21. Ito, H., Hiraga, S., Tsugawa, H., Matsui, H., Honma, M., Otsuki, Y., Murakami, T. and Ohashi, Y. (2000). Xylem-specific expression of wound-inducible rice peroxidase genes in transgenic plants. *Plant Sci.* 13, 210-216.
  22. Mitsuhashi, I., Nakajima, Y., Natori, S., Mitsuoka, T., and Ohashi, Y. (2001). *In vitro* growth inhibition of human intestinal bacteria by sarcotoxin IA, an insect bactericidal peptide. *Biotech. Lett.* 23, 569-573.
  23. Yamakawa, H., Mitsuhashi, I., Ito, N., Seo, S., Kamada, H., and Ohashi, Y. (2001). Transcriptionally and post-transcriptionally regulated response of 13 calmodulin genes to tobacco mosaic virus-induced cell death and wounding in tobacco plant. *Eur. J. Biochem.* 268, 3916-3929.
  24. Seo, S., Seto, H., Yamakawa, H. and Ohashi, Y. (2001). Transient accumulation of jasmonic acid during the synchronized hypersensitive cell death in *tobacco mosaic virus*-infected tobacco leaves. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 14, 261-264.
  25. Watanabe, T., Seo, S. and Sakai, S. (2001). Wound-induced expression of a gene for 1-aminocyclopropane-1- carboxylate synthase and ethylene production are regulated by both reactive oxygen species and jasmonic acid in *Cucurbita maxima*. *Plant Physiol. Biochem.* 39,121-127.
  26. Ito, N., Takabatake, R., Seo, S., Hiraga, S., Mitsuhashi, I., and Ohashi, Y. (2002). Induced expression of a temperature-sensitive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase gene by hypersensitive cell death and wounding in tobacco plant carrying the *N* resistance gene. *Plant Cell Physiol.* 43, 266-274.
  27. Kosugi, S., and Ohashi, Y. (2002). Interaction of the *Arabidopsis* E2F and DP proteins confers their concomitant nuclear translocation and transactivation. *Plant Physiol.* 128, 833-843.
  28. Mitsuhashi, I., Shirasawa-Seo, N., Iwai, T., Nakamura, S., Honkura, R., and Ohashi, Y. (2002). Release from post-transcriptional gene silencing by cell proliferation in transgenic tobacco

- plants: Possible mechanism for noninheritance of the silencing. *Genet.* 160, 343-352.
29. Shirasawa-Seo, N., Mitsuhashi, I., Nakamura, S., Murakami, T., Iwai, T., Nishizawa, Y., Hibi, T., and Ohashi, Y. (2002). Constitutive promoters available for transgene expression instead of *CaMV* 35S RNA promoter : *Arabidopsis* promoters of tryptophan synthase protein  $\beta$  subunit and phytochrome B. *Plant Biotech.* 19, 19-26.
  30. Kosugi, S., and Ohashi, Y. (2002). E2F sites that can interact with E2F proteins cloned from rice are required for meristematic tissue-specific expression of rice and tobacco proliferating cell nuclear antigen promoters. *Plant J.* 29, 45-59.
  31. Sasaki, K., Hiraga, S., Ito, H., Seo, S., Matsui, H., and Ohashi, Y. (2002). A wound-inducible tobacco peroxidase gene expresses preferentially in the vascular system. *Plant Cell Physiol.* 43, 108-117.
  32. Iwai, T., Kaku, H., Honkura, R., Nakamura, S., Ochiai, H., Sasaki, T., and Ohashi, Y. (2002). Enhanced resistance to seed-transmitted bacterial diseases in transgenic rice plants overproducing an oat cell-wall-bound thionin. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 15, 515-521.
  33. Kosugi, S., and Ohashi, Y. (2002). DNA binding and dimerization specificity and potential targets for the TCP protein family. *Plant J.* 30, 337-348.
  34. Kosugi, S., and Ohashi, Y. (2002). E2Fs, E2F-like repressors of *Arabidopsis* that bind to E2F sites in a monomeric form. *J. Biol. Chem.* 277, 16553-16558.
  35. Qiao, J., Mitsuhashi, I., Yazaki, Y., Sakano, K., Gotoh, Y., Miura, M., and Ohashi, Y. (2002). Enhanced resistance to salt, cold and wound stresses by overproduction of animal cell death suppressors Bcl-xL and Ced-9 in tobacco cells - Their possible contribution through improved function of organelle. *Plant Cell Physiol.*, 43, 992-1005.

(橋本・菊池 チーム)

36. Yanagawa, Y., Ueda, T., Yamamoto, K., Sasaki, T., Tanaka, K., Hashimoto, J., Sato, T. and Nakagawa, H. (1998). Cloning and sequencing of cDNA from *Oryza sativa* encoding a homolog to non-ATPase subunit, MBP1, of 26S Proteasome in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotech.* 15, 147-150.
37. Yanagawa, Y., Ohhashi, A., Murakami, Y., Saeki, Y., Yokosawa, H., Tanaka, K., Hashimoto, J., Sato, T. and Nakagawa, H. (1999). Purification and characterization of the 26S proteasome from cultured rice (*Oryza sativa*) cells. *Plant Sci.* 149, 33-41.
38. Ueda, T., Seo, S., Ohashi, Y. and Hashimoto, J. (2000). Circadian and senescence-enhanced expression of a tobacco cysteine protease gene. *Plant Mol. Biol.* 44, 649-657.
39. Kimura, S., Ueda, T., Hatanaka, M., Takenouchi, M., Hashimoto, J. and Sakaguchi, K. (2000). Plant homologue of flap endonuclease-1: molecular cloning, characterization, and evidence of expression in meristematic tissues. *Plant Mol. Biol.* 42, 415-427.
40. Kimura, S., Ishibashi, T., Hatanaka, M., Sakakibara, Y., Hashimoto, J. and Sakaguchi, K. (2000). Molecular cloning and characterization of a plant homologue of the origin recognition complex 1 (ORC1). *Plant Sci.* 158, 33-39.
41. Furukawa, T., Kimura, S., Ishibashi, T., Hashimoto, J., and Sakaguchi, K. (2001). A plant homologue of 36 kDa subunit of replication factor C: molecular cloning and characterization. *Plant Sci.* 161, 99-106.
42. Kimura, S., Suzuki, T., Yanagawa, Y., Yamamoto, T., Nakagawa, H., Tanaka, I., Hashimoto, J.,



- and Sakaguchi, K. (2001). Characterization of plant proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and flap endonuclease-1 (FEN-1), and their distribution in mitotic and meiotic cell cycles. *Plant J.* 28, 643-653.
43. Ishibashi, T., Kimura, S., Furukawa, T., Hatanaka, M., Hashimoto, J., and Sakaguchi, K. (2001). Two types of replication protein A 70 kDa subunit in rice, *Oryza sativa*: molecular cloning, characterization, and cellular & tissue distribution. *Gene*, 272, 335-343.
44. Kimura, S., Uchiyama, Y., Kasai, N., Namekawa, S., Saotome, A., Ueda, T., Ando, T., Ishibashi, T., Oshige, M., Furukawa, T., Yamamoto, T., Hashimoto, J., and Sakaguchi, K. (2002). A novel DNA polymerase homologous to *Escherichia coli* DNA polymerase I from a higher plant, rice (*Oryza sativa* L.). *Nucl. Acids Res.* 30, 1585-1592.
45. Yanagawa, Y., Kimura, S., Takase, T., Sakaguchi, K., Umeda, M., Komamine, A., Tanaka, K., Hashimoto, J., Sato, T., and Nakagawa, H. (2002). Spatial distribution of the 26S proteasome in meristematic tissues and primordia of rice (*Oryza sativa* L.). *Planta*, 214, 703-707.
46. Yanagawa, Y., Hasezawa, S., Kumagai, F., Oka, M., Fujimuro, M., Naito, T., Makino, T., Yokosawa, H., Tanaka, K., Komamine, A., Hashimoto, J., Sato, T., and Nakagawa, H. (2002). Cell-cycle dependent dynamic change of 26S proteasome distribution in tobacco BY-2 cells. *Plant Cell Physiol.*, 43, 604-613.
47. Uchiyama, Y., Hatanaka, M., Kimura, S., Ishibashi, T., Ueda, T., Sakakibara, Y., Matsumoto, T., Furukawa, T., Hashimoto, J., and Sakaguchi, K. (2002). Characterization of DNA polymerase  $\delta$  from a higher plant, rice (*Oryza sativa* L.). *Gene*, 295, 19-26.
48. Furukawa, T., Kimura, S., Ishibashi, T., Mori, Y., Hashimoto, J., and Sakaguchi, K. (2003). *OsSEND-1*: a new RAD2 nuclease family member in higher plants. *Plant Mol. Biol.* 51, 59-70.

#### 角谷グループ

49. Kakutani, T., Munakata, K., Richards, E.J. and Hirochika, H. (1999). Meiotically and mitotically stable inheritance of DNA hypomethylation induced by *ddm1* mutation of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 151, 831-838.
50. Okamoto, H. and Hirochika, H. (2000). Efficient insertion mutagenesis of *Arabidopsis* by tissue culture-induced activation of the tobacco retrotransposon Tto1. *Plant J.* 23, 291-304.
51. Hirochika, H., Okamoto, H. and Kakutani, T. (2000). Silencing of retrotransposons in *Arabidopsis* and reactivation by the *ddm1* mutation. *Plant Cell* 12, 357-369.
52. Soppe, W., Jacobsen S. E., Alonso-Blanco C., Jackson J., Kakutani T., Koornneef M. and Peeters A. J. M.: The gain of function epi-mutant FWA causes late flowering. *Molecular Cell* 6, 791-802 (2000).
53. Takeda, S., Sugimoto, K, Kakutani, T. and Hirochika H.: Linear DNA intermediates of the Tto1 retrotransposon in Gag particles accumulated in stressed tobacco and *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 27, 307-317 (2001)
54. Miura, A., Yonebayashi, S., Watanabe, K., Toyama, T., Shimada, H. and Kakutani, T. (2001). Mobilization of transposons by a mutation abolishing full DNA methylation in *Arabidopsis*. *Nature* 411, 212-214.
55. Soppe, W.J.J., Jasencakova, Z., Houben, A., Kakutani, T., Meister, A., Huang, M.S., Jacobsen, S.E., Schubert, I., and Fransz, P.F (2002). "DNA methylation controls histone H3 lysine 9 methylation and heterochromatin assembly in *Arabidopsis*" *EMBO J.*, 21, 6549-6559.

## 佐野グループ

56. Steward, N., Kusano, T. and Sano, H. (2000). Expression of ZmMET1, a gene encoding a DNA methyltransferase from maize, is associated not only with DNA replication in actively proliferating cells, but also with altered DNA methylation status in cold-stressed quiescent cells. *Nucl. Acids Res.* 28, 3250-3259.
57. Nakano, Y., Koizumi, N., Kusano, T. and Sano, H. (2000). Isolation and properties of an S-adenosyl-L-methionine binding protein from the green alga, *Chlamydomonas reinhardi*. *J. Plant Physiol.* 157, 707-711.
58. Nakano, Y., Steward, N., Sekine, M., Kusano, T. and Sano, H. (2000). A tobacco *NtMET1* cDNA encoding a DNA methyltransferase: molecular characterization and abnormal phenotypes of transgenic tobacco plants. *Plant Cell Physiol.* 41, 448-457.
59. Nisiyama, R., Ito, M., Yamaguchi, Y., Koizumi, N., and Sano, H. (2002). A chloroplast-resident DNA methyltransferase is responsible for hypermethylation of chloroplast genes in *Chlamydomonas* maternal gametes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 5925-5930.
60. Yap, Y. K., Kakamu, K., Yamaguchi, Y., Koizumi, N., and Sano, H. (2002). Promoter analysis of *WIPK*, a gene encoding a tobacco MAP kinase, with reference to wounding and tobacco mosaic virus infection. *J. Plant Physiol.* 159, 77-83.
61. Steward, N., Ito, M., Yamaguchi, Y., Koizumi, N., and Sano, H. (2002). Periodic DNA methylation in maize nucleosomes and demethylation by environmental stress. *J. Biol. Chem.*, 277, 37741-37746.

## 総説・解説・著作 (27 件)

1. 平賀勸、伊藤浩之、大橋祐子 (1998). 形質転換植物を用いたイネ傷害誘導性ペルオキシダーゼの特性と機能の解析、植物の化学調節、33, 131-136.
2. 大橋祐子 (1998). 遺伝子組換えによる病害抵抗性作物育種の展望、関東東山病害虫研究会年報、45, 1-6.
3. 大橋祐子 (1998). 情報伝達物質としてのサリチル酸: 細胞工学別冊 植物細胞工学シリーズ 10、秀潤社、199-202.
4. 瀬尾茂美、大橋祐子 (1999). 植物の細胞死と耐病性、研究ジャーナル、22, 21-26.
5. 大橋祐子 (1999). 傷害に対する応答の概説、蛋白質 核酸 酵素 44, 211-212.
6. 瀬尾茂美、伊藤直子、大橋祐子 (1999). 傷害応答におけるシグナル伝達、蛋白質 核酸 酵素、44, 213-218.
7. 光原一朗、三浦正幸、大橋祐子 (1999). 細胞死抑制機構は動物と植物で保存されているか? -Bcl-xL/Ced-9 による植物の細胞死抑制- 細胞工学、18, 1280-1283.
8. Seo, S. and Ohashi, Y. (1999) Mitogen-Activated Protein Kinases and Wound Stress. *Results and Problems in Cell Differentiation*, 27, 53-63.
9. 大橋祐子 (1999). 作物に対する耐病性遺伝子の導入: 農業環境を守る微生物利用技術、家の光協会、59-74.
10. 光原一朗、大島正弘、大橋祐子 (1999). 抗菌性ペプチド遺伝子導入植物における細菌病および糸状菌病抵抗性、化学と生物、37, 205-209.
11. 瀬尾茂美 (2000). 植物のプロスタグランジン、ジャスモン酸一傷害応答における役割.

- 生物工学会誌、78, 195.
12. 大橋祐子 (2001). 概論 植物ゲノム機能のダイナミズム 転写因子による発現制御、Springer, 189-190.
  13. 小杉俊一、大橋祐子、(2001). 病害応答 植物ゲノム機能のダイナミズム 転写因子による発現制御、Springer, 191-204.
  14. 大橋祐子、瀬尾茂美 (2001). 傷害に対する応答. 環境応答 朝倉植物生理学講座、5, 178-186.
  15. Hiraga, S., Sasaki, K., Ito, H., Ohashi, Y. and Matsui, H. (2001) A Large Family of Class III Plant Peroxidases. *Plant Cell Physiol*, 42, 462-468.
  16. Ohashi, Y., Seo, S., Mitsuhara, I., Yamakawa, H. and Ito, N. (2001). Signaling Pathways for TMV-And Wound-Induced Resistance in Tobacco Plants. *Delivery and Perception of Pathogen Signals in Plants*, 122-129.
  17. 岩井孝尚、矢頭治、福本文良、加来久敏、大橋祐子 (2002). エンバク由来の抗菌性タンパク質遺伝子導入による細菌病抵抗性イネの作出. 農業および園芸、77, 10-14.
  18. 瀬尾茂美、光原一郎、大橋祐子 (2002). 植物のオルガネラを介したプログラム細胞死. 化学と生物、40, 590-596.
  19. 光原一郎、瀬尾 (白澤) 直美、大橋祐子. (2002). 転写後型ジーンサイレンシングが遺伝しないわけ 細胞増殖によるサイレンシングの解除. 細胞工学、21, 650-651.
  20. Ichimura, K., Shinozaki, K., Tena, G., Sheen, J., Henry, Y., Champion, A., Kreis, M., Zhang, S., Hirt, H., Wilson, C., Heberle-bors, E., Ellis, B. E., Morris, P. C., Innes, R. W., Ecker, J. R., Scheel, D., Klessig, D. F., Machida, Y., Mundy, J., Ohashi, Y., and Walker, J. C. (2002). Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci.*, 7, 301-308.
  21. Kakutani, T. (2002). Epi-alleles in plants: inheritance of epigenetic information over generations. *Plant Cell Physiol.*, 43,1106-1111.
  22. Habu Y, Kakutani T & Paszkowski, J. (2001) Epigenetic developmental mechanisms in plants: molecules and targets of plant epigenetic regulation. *Current Opinion in Genetics & Development* 11, 215-220.
  23. 角谷徹仁 (2001) 「シロイヌナズナ突然変異体を用いたエピジェネティクス」細胞工学 Vol.20, 363-367
  24. 角谷徹仁 (2001) 「DNA メチル化変異によるトランスポゾンの転移誘導」細胞工学 Vol.20, 940-941
  25. 角谷徹仁 (2001) 「DNA 低メチル化突然変異によるシロイヌナズナ内在トランスポゾンの活性化」植物の生長調節 Vol. 36, 178-180
  26. 佐野浩 (1998). サイトカイニンの初期作用: 細胞工学別冊 植物細胞工学シリーズ 10、秀潤社、68-74.
  27. 佐野浩、原光二郎 (1999). 傷害応答にかかわる遺伝子の発現調節、環境応答・適応の分子機構 蛋白質 核酸 酵素、44, 2353-2359.

(2) 特許出願 (国内 1 件、海外 1 件)

①国内 特開 2000-50877 公開日 平成 12 年 2 月 22 日

大橋祐子・小杉俊一 エチレン誘導性遺伝子群の発現を制御する転写因子

②PCT PCT/JP99/02347 出願 平成 11 年 6 月 5 日

大橋祐子・小杉俊一 エチレン誘導性遺伝子群の発現を制御する転写因子

(3) 新聞報道等

①新聞報道

a) 農業生物資源研

日本工業新聞、化学工業新聞、日本農業新聞など 10 誌、2002. 5. 31－7. 19. 見出し“[細菌病に強い稲 誕生] エンバク遺伝子導入－種子消毒の省力化へ期待”など。

b) 国立遺伝研

朝日新聞夕刊、2001. 5. 16

見出し「遺伝子スイッチをオフ、DNA メチル化に注目」

②受賞

日本植物生理学会論文賞受賞 大橋祐子ら 2001. 3. 27

③その他

(4) その他特記事項