

「二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力
強化と生産物活用のための基盤技術の創出」
平成23年度採択研究代表者

H24 年度
実績報告

彦坂 幸毅

東北大学大学院生命科学研究科 教授

将来の地球環境において最適な光合成・物質生産システムを持った
強化植物の創出

§1. 研究実施体制

(1) 彦坂グループ

① 研究代表者:彦坂 幸毅 (東北大学大学院生命科学研究科、教授)

② 研究項目

- ・シロイヌナズナの成長の高 CO₂ 応答のジェノタイプ間比較
- ・ハツカダイコンの成長の高 CO₂ 応答の品種間比較
- ・高 CO₂ で成長がよいシロイヌナズナ変異体の探索
- ・高 CO₂ で成長がよいハツカダイコン変異体の探索

(2) 寺島グループ

① 主たる共同研究者:寺島 一郎 (東京大学大学院理学系研究科、教授)

② 研究項目

- ・シンク力決定メカニズムの解析

(3) 花田グループ

① 主たる共同研究者:花田 耕介 (理化学研究所 環境資源科学研究センター・客員研究員、九州工業大学 若手研究者フロンティア研究アカデミー・准教授)

② 研究項目

- ・ハクサンハタザオ・ハマダイコン・ハツカダイコンの次世代シークエンス解析
- ・ゲノム関連解析を通じて予測された高 CO₂ への適応に関する候補遺伝子を強制発現・ノックダウン個体をシロイヌナズナで作製

(4) 森長グループ

① 主たる共同研究者: 森長 真一 (東京大学大学院総合文化研究科、助教)

② 研究項目

・エコタイプ間比較による適応遺伝子探索

§2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

エコタイプ・品種間比較(彦坂)

シロイヌナズナ 44 エコタイプについて異なる CO₂ 濃度で成長解析を行い、エコタイプ間で成長速度やその CO₂ 応答に大きな違いがあることを明らかにした。成長の違いがどのような形質の違いに由来するかを解析するために新たな成長解析モデルを開発し、成長や CO₂ 応答の違いが光合成の窒素利用効率の違いに由来することを明らかにした。さらに、ゲノムとの比較を行い、論文にまとめる予定である。

ハツカダイコンの 20 品種を気温が異なる二つの時期に異なる CO₂ 濃度で育成し、成長解析を行った。成長量や CO₂ 応答に有意な品種間が存在することが明らかとなった。現在、シロイヌナズナで用いた成長解析法を適用すべく、個々の形質の測定を行っている最中である。

オオイトドリは光合成速度の CO₂ 濃度依存性が生育 CO₂ 濃度によって変化する植物の一つである。これは窒素利用についての最適化モデルが予測する変化と似ており、もしオオイトドリにおいて窒素利用の最適化が起こっているならば、これを作物創出に応用できると考え、詳細な調査を行った。残念ながらオオイトドリの光合成の CO₂ 応答は最適化モデルが予測するものとは違っており、窒素利用が改善されているわけではないことが明らかとなった。このことを論文にまとめて発表した¹⁾。

シンク力調節の機構解析と評価(寺島)

23 年度に構築したグロースチェンバーと、CO₂ 濃度制御用サブチェンバーを用いて、ハツカダイコン 2 品種(胚軸が太る「コメット」、胚軸や根が太らない「葉大根」)、およびこれらの接ぎ木植物を栽培して、成長、光合成速度、蒸散速度、糖含量を比較した。特に、地上部と地下部の成長の関係を精査した。接ぎ木実験により、葉大根を穂、コメットを台にしても胚軸は太ること、逆の場合には葉大根の胚軸や根は太らないことから、コメットの胚軸が太る性質は胚軸そのものが持つものであり、地上部から誘導には無関係であることが明らかになった。

高 CO₂ 濃度下では光合成がダウンレギュレーションを受けることが多い。一方、光合成産物を利用する活性や蓄積する活性(シンク活性)が高いと、光合成がダウンレギュレーションを受けにくい。本研究では、シンク活性が高いコメットを台とした植物、穂/台で記すと、葉大根/コメット、コメット/コメット、において光合成のダウンレギュレーションが起こりにくいことを確認した。しかし、

貯蔵シンク活性が高いコメツトでは、葉の成長のために物質が分配されず、植物体自体の成長はそこなわれた。このように、光合成のダウンレギュレーションと、植物体全体の成長とは、別次元の問題である。これらの成果を学会で講演した。追試を行い論文としても公表する予定である。

ゲノム関連解析(花田)

ゲノム関連解析を行うためには、非モデル生物であるハクサンハタザオ、ハマダイコンおよびハツカダイコンでのドラフトゲノムまたは遺伝子領域を決定する必要がある。本年度は、国立遺伝学研究所の藤山秋佐夫教授および豊田敦特任准教授の協力の下で、次世代シーケンサーを利用してゲノム DNA および RNA を用意して、ドラフトゲノム配列および遺伝子領域の決定を行った。先行しているゲノム関連解析を通じて予測された高 CO₂ への適応に関係する候補遺伝子を強制発現・ノックダウン個体をシロイヌナズナで継続的に作製し、高 CO₂ への適応に関係する遺伝子スクリーニングの材料を準備した。

先行研究では、短い遺伝子の同定のために開発した情報解析を用いて、すでに多くのゲノム解析が行われているシロイヌナズナを調べたところ、これまで注目されていなかったゲノム領域から新規に多数の短い遺伝子を推定した。この中から 473 個を無作為に選び、それらが過剰発現する変異体を作製した結果、約 10%にあたる 49 個の過剰発現体が形態異常を示した²⁾。これまで、網羅的な既知遺伝子の過剰発現解析では、1.4%程度の割合でしか形態形成に関わる遺伝子は発見されていない。それに比べると、今回発見した遺伝子が同定されていない領域にも高確率で形態形成に関わる短い遺伝子が存在することが分かった。これらの新規遺伝子の多くは、植物体のサイズを変化させるものが多く、炭素同化などの機能を強化したものも少なからず存在する可能性があると考えられる。そこで、これらの過剰発現体においても、彦坂グループと共同してスクリーニングを行い、高 CO₂ 下で適応する遺伝子を同定する予定である。

エコタイプ間比較による適応遺伝子探索(森長)

ハマダイコンを対象に、沖縄から秋田にかけて 14 集団を選定して種子を採取した。これらの種子と栽培ダイコン二品種を用いて、室内と野外での共通環境栽培実験を行い、野生集団の保有する形質の自然変異について定量化を行った。その結果、ハマダイコン種内には栽培ダイコンにはない豊富な遺伝変異が含まれており、集団ごとにシンクソース比などの形質に違いがみられる事が明らかとなった。沖縄集団由来の 1 系統については、次世代シーケンサーを用いてゲノム配列解析と複数条件下での RNA-seq 解析をおこない、現在はこれらのデータを用いてアセンブルをおこなっている。今後は、作成予定のドラフトゲノム配列をリファレンスにしてエコタイプ間のゲノム配列を比較することにより、シンクソース比をはじめとした形質の自然変異を担う遺伝子の同定を進める。

ハクサンハタザオを対象に、現生個体と標本個体のゲノム比較により、環境変化に対する適応を担う遺伝子の探索をおこなった。リファレンス配列を作成するために、ゲノム配列解析と RNA-seq 解析をおこなった。そして、滋賀県伊吹山内の 2 集団を対象に、およそ 60 個体のゲノ

ムリシーケンスをおこない、マッピングによって一塩基多型(SNP)を検出し、対立遺伝子頻度の時間的変化を解析した。その結果、過去 110 年の間に対立遺伝子頻度が大きく変化した SNP が複数存在し、その中のいくつかは連鎖不平衡が長くなっており、自然選択を受けた可能性が示唆された。今後は、解析集団を増やすとともに、シロイヌナズナを用いて当該適応候補遺伝子の機能解析を進め、将来の地球環境において最適な形質を有する植物の創出に繋げる。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

1. Akita R, Kamiyama C, Hikosaka K (2012) *Polygonum sachalinense* alters the balance between capacities of regeneration and carboxylation of ribulose-1,5-bisphosphate in response to growth CO₂ increment but not the nitrogen allocation within the photosynthetic apparatus. *Physiologia Plantarum*, 146: 404-412 (DOI: 10.1111/j.1399-3054.2012.01631.x).
2. Hanada K, Higuchi-Takeuchi M, Okamoto M, Yoshizumi T, Shimizu M, Nakaminami K, Nishi R, Ohashi C, Iida K, Tanaka M, Horii Y, Kawashima M, Matsui K, Toyoda T, Shinozaki K, Seki M, Matsui M (2013) Small open reading frames associated with morphogenesis are hidden in plant genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 110: 2395-2400 (DOI: 10.1073/pnas.1213958110).