

研究シーズ探索プログラム 研究課題別評価書

1. 研究課題名

光の反射率を高めた砂漠適応型植物の創製

2. 研究代表者

明石 欣也（奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 助教）

3. 研究シーズ探索成果の概要

本研究では、地球上の陸地の50%を占める乾燥地における植物の生存能力を高めCO₂固定効率を増大させるために、植物の葉の表面のクチクラ・ワックス形成を強化し、過剰な光を反射する能力を高めた植物を創製するための基盤研究開発を行った。カラハリ砂漠に自生し強光乾燥耐性の高い野生種スイカを用いて、クチクラ層の環境応答について解析した。野生種スイカの葉表面に沈着するワックス類の蓄積量は、弱光下で生育させた場合に比べ、強光下では単位面積当たりで約2倍に、強光乾燥ストレス下では約22倍まで増加することが判明した。特に、炭素数31のn-アルカン蓄積量が強光乾燥下で顕著に増加することが示唆された。そこで、クチクラワックス生合成に関与する遺伝子群の発現を解析したところ、長鎖脂肪酸合成経路の鎖長伸長反応の初発段階を担う β -ketoacyl-CoA synthases や、長鎖アルデヒドからn-アルカンへの変換を触媒するAldehyde decarbonylaseなどの遺伝子発現が、強光乾燥ストレスにより顕著に活性化することが判明した。これらの結果は、野生種スイカにおいてクチクラワックス関連遺伝子群が転写レベルで協調的に制御され、強光乾燥ストレス下においてクチクラ層の強化が達成されることを示している。

4. 研究シーズ探索のねらい

本研究では、地球上の陸地の約50%を占める乾燥地・半乾燥地における植物の生存能力を高め、CO₂固定効率を増大させるために、過剰な光エネルギーを反射する能力を高めた植物の創製のための基盤研究開発を行うことを狙いとした。具体的には、葉の表面のクチクラ層に沈着するワックスについて、(1) 砂漠植物におけるワックス形成の分子メカニズムについての知見を収集し、(2) ヤトロファ等のバイオ燃料植物にこのメカニズムを導入することで、乾燥地でのバイオマス増産およびCO₂固定効率の増大を図るための基盤技術の構築を図ることを狙いとした。

5. 研究シーズ探索の方法と成果

5.1 方法

アフリカ・カラハリ砂漠原産の野生種スイカは、光強度700 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の人工気象機内で栽培し、第4葉が完全展開した時点で灌水を停止することにより乾燥ストレスを付与した。葉表面のワックス蓄積量を測定する際には、葉からリーフディスクを切り取り、ジクロロメタンに30秒間浸すことによりワックスを抽出し、窒素ガス下で乾固したのちにBSAを用いて誘導体化し、ガスクロマトグラフィーにより測定した。遺伝子解析に当たり、野生種スイカの葉における活性化遺伝子の網羅的解析については、次世代シーケンサー454を用い解析した。個々の遺伝子の発現

レベルの定量的解析については、リアルタイム PCR により行った。ヤトロファおよびシロイヌナズナへの遺伝子形質転換については、常法に従いアグロバクテリウム感染法により行った。

5. 2 成果

自然界において強光乾燥にตอบสนองしてクチクラ形成を強化する植物をモデルとして用い、クチクラ層ワックス形成メカニズムを解析する実験系を構築した。実験には、アフリカ・カラハリ砂漠に自生する野生種スイカを用い、この植物を弱光下、強光下および強光乾燥に暴露した場合の葉表面のワックス含量および組成を解析したところ、強光乾燥に暴露された植物体において、葉表面のワックス量が約 22 倍まで増強されることを確認した(図1)。個々のワックス成分では、炭素数 31 の n-アルカン蓄積量が強光乾燥下で顕著に増加することが示された。

そこで、葉表面においてワックス生成に関与する遺伝子群の活性化状態を解析した。その結果、ワックス炭素鎖の伸長の鍵酵素である KCS (beta-ketoacyl CoA synthase)が、強光乾燥ストレスに伴い約 240 倍にその mRNA 転写量を増大させることが判明した。また、クチクラ層ワックスの主成分である長鎖アルカン類の生合成の鍵酵素である CER1 (fatty acid aldehyde decarbonylase)については、その mRNA 転写量が約 40 倍に増大することが判明した。このように砂漠適応型の植物においては、強光乾燥ストレス条件下においてクチクラ層ワックスの生合成を担う遺伝子群が顕著に活性化され、クチクラ層の強化を促進させていることが強く示唆された。

クチクラ層ワックスを強化した植物を創製するためには、上記の酵素遺伝子群を包括的に制御する転写因子遺伝子を操作することが有効であると考えられる。そこで次に、これらクチクラ層強化を統合的に制御する遺伝子転写因子の探索を行った。この目的のために、近年開発された次世代シーケンサーを利用し、野生種スイカの葉における活性化遺伝子を網羅的に解析した。その結果、検出された約 9,500 種の遺伝子群の中から、植物葉の表皮細胞においてクチクラ層形成に関与することが示唆される転写因子候補群を見出した。これらは、AP2 型あるいは HD-ZIP 型の構造的特徴を有する転写因子であった。現在、これら遺伝子群の機能評価を進めるために、モデル植物であるシロイヌナズナにおいて分子遺伝学的実験を行っているほか、乾燥地でのバイオ燃料生産が可能であるディーゼル植物であるヤトロファへの、遺伝子導入の準備を進めている。

6. 自己評価

地球上には、過酷な強光乾燥環境に対して有効な耐性を有する野生植物が存在し、砂漠環境下で生存している。これら耐乾燥性植物は、しばしばその葉の表面のクチクラ層に大量のワックス成分を沈着させており、葉の水分保持能力を高めると共に、太陽光の反射率を増大させ、過剰光エネルギーによるダメージを回避する。例えばカラハリ砂漠における野生種スイカは、ストレス下で葉の表面が青白く光るほどに形態的な適応を示す。本研究において、これらクチクラ層ワックスの発達を定量的に分析し、またこの発達に関与する遺伝子群の挙動を明らかにすることができたことは、今後さらにクチクラ層ワックスの強化メカニズムを解明していくうえで、有意義であった。1年間と短い研究機関であったが、これらクチクラ層ワックスの強化に関与することが想定される転写制御遺伝子候補群の単離に至ることもできた。今後さらに研究を進め、メカ

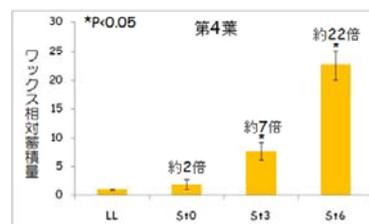


図1、強光乾燥ストレス下の野生種スイカの葉におけるワックス蓄積量。
LL: 弱光0日目、S10: 強光・乾燥ストレス0日目、S13: 強光・乾燥ストレス3日目、S16: 強光・乾燥ストレス6日目。

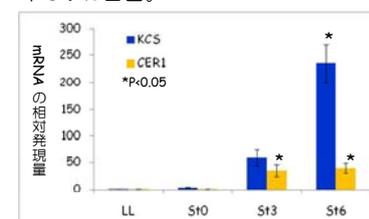


図2、強光乾燥ストレス下の野生種スイカの葉におけるワックス整合性関連遺伝子の発現量の増大。
KCS: beta-ketoacyl CoA synthase、CER1: fatty acid aldehyde decarbonylase

ニズムの全容の理解と応用への発展を図りたいと考えている。

7. PO の見解

植物による光合成は光を必要とするが、一方では過剰な光は植物を枯死させてしまう。本研究は、植物の葉の表面の状態を改変する事により、過剰な光エネルギーを反射する能力を高めた植物を作成することによってこの点を解決し、砂漠などの強光乾燥状態に対するストレス耐性の高い植物を人工的に創り上げようとする独創的で野心的な研究である。

本研究においては、野生種スイカにおいて、強光乾燥ストレス下で葉の表面のクチクラ層に誘導されるワックス量が 12 倍～22 倍に強化されることを発見するとともに、特定種のアルカン合成の鍵酵素量の遺伝子転写量が顕著に活性化することを見いだすなど、ワックス成分の主成分を同定することができた。

ワックス形成メカニズムの知見は得られつつある。他方、植物への遺伝子導入に成功しているものの、ワックス形成や耐ストレス性の確認までには到っていない。これは、1 年という期間しかないため、植物研究には十分な時間がなかったためとも考えられる。

科学的な観点から見れば、本事業における最も素晴らしい成果の一つであり、高く評価すべきものと考えられる。

また、地球上で広大な面積を占める砂漠が植物の培養に利用できるようになれば、低炭素社会の実現に貢献することは疑いなく、本研究が拓いたストレス耐性植物の作出という研究分野自体は、game changing になりうるものであり、ぜひ拡大展開推進が必要であると考え。しかし、研究の性質上、目標達成のためには 10 年以上の長いスパンでの継続的な取り組みが不可欠である。

当研究者においても、強光乾燥ストレスによって発現が変動する遺伝子を制御する転写因子を是非つきとめ、ゆくゆくは、どのような時間スケールで機能が発揮されるのか、また、クラクチワックス形成により光反射効率が高まり強光乾燥地帯での植物生産性があがることを実験的に証明していただきたい。

8. 研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

なし

(2)特許出願

なし

(3)口頭発表

①学会

国内 2件、 海外 0件

渋谷 安未、星安 紗希、吉田 信行、横田 明穂、明石 欣也 (2011)「強光乾燥下の野生種スイカにおけるワックス合成遺伝子の発現制御とクチクラ層ワックスの蓄積強化」、日本植物生理学会、3月、仙台。

明石 欣也、渋谷 安未、星安 紗希、吉田 信行、横田 明穂 (2011)「強光乾燥下の野生種スイカにおけるクチクラ層ワックスの蓄積強化」、日本農芸化学学会、3月、

京都。

②その他

国内 0 件, 海外 0 件

(4)その他の成果(受賞、著書、招待講演、特記事項等)

著書

明石 欣也 (2011) アフリカにおけるバイオ燃料開発状況、バイオサイエンスとバイオインダストリー、vol 69, 60-64

明石 欣也 (2010) バイオマス作物の増産、植田充美、田村浩、編集、エコバイオリファイナリー、脱石油社会へ移行するための環境ものづくり戦略、pp 14-22.

招待講演

Kinya Akashi (2011) Metabolic engineering, molecular breeding and international collaborations on *Jatropha curcas*. Symposium on *Jatropha* Research: Updates and Future Perspectives. Osaka Univ. Jan, 12.