

「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

H23 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 CO<sub>2</sub> 応答のジェノタイプ間比較
- ・ハツカダイコンの成長の高 CO<sub>2</sub> 応答の品種間比較
- ・高 CO<sub>2</sub> で成長がよいシロイヌナズナ変異体の探索
- ・高 CO<sub>2</sub> 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 (理化学研究所植物科学研究センター、研究員)

#### ② 研究項目

- ・トランスクリプトーム解析
- ・ゲノム関連解析
- ・過剰発現体・機能抑制株の作成

### (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

### <彦坂グループ>

本研究が始まる以前から着手していたシロイヌナズナ変異株の単離、突然変異部位の特定、形質評価を行った。EMS によって突然変異を誘発したシロイヌナズナ M2 種子を発芽させて育成し、クロロフィル蛍光を指標にして光化学反応の量子収率が高 CO<sub>2</sub> 濃度で高い変異体をスクリーニングし、5000 個体のスクリーニングから光合成速度が高い変異体一系統(仮称1211)を単離した。遺伝子マッピングを行った結果、1211 の変異は第 5 染色体にある可能性が高いと考えられた。さらに遺伝子を特定すべく研究を進めている。1211 変異体を用いて予備的に形質評価を行い、1211 は高 CO<sub>2</sub> 濃度でも低 CO<sub>2</sub> 濃度でも野生株よりも光合成速度が高いことが明らかとなった。現在、バッククロスを行い、他の変異を排除した株を得ようとしている。さらに 3000 個体のスクリーニングを行い、高 CO<sub>2</sub> 濃度での量子収率が高い変異体を数株単離した。今後これらの変異体の解析を行う。

ハツカダイコンについては、TILLING 法によって標的遺伝子に変異がある変異体の単離を計画している。最初のステップとして EMS 処理を行って種子に突然変異を誘発し、種子の播種を行った。今年度はこれらの個体を育成し、交配させ、種子を得る予定である。また、様々なハツカダイコンの品種を異なる CO<sub>2</sub> 条件で育成して成長を解析し、CO<sub>2</sub> によく応答する品種の特定を行う予定である。23 年度は実験で用いる品種を決定し、種子を入手した。

### <寺島グループ>

各グループで得られた変異体の生理機能を精査するためのシステムを構築すべく、プレハブ人工気象室を設置した。この内部にさらにチャンバーを置き、その内部の CO<sub>2</sub> 濃度を制御する。このための CO<sub>2</sub> 制御装置を特注し設置した。さらに、植物個体の各部を異なる環境に保つことが可能な既存の部分環境制御装置(寺島研究室、新谷ら 2008)を、この人工気象室内で使えるよう整備した。また、安定同位体を用いたトレーサー実験用のシステムも構築中である。研究面では、まず、ハツカダイコン(品種、ホワイトチェリッシュ)と葉ダイコン(品種、小瀬菜)の光合成活性や成長を通常 CO<sub>2</sub> および高 CO<sub>2</sub> で比較した臼田の研究(1998, 1999a,b)を検討した。高 CO<sub>2</sub> による光合成のダウンレギュレーションはシンクの大きなハツカダイコンでは起こりにくい、全体のバイオマスは、成長初期からシンクが肥大するハツカダイコンの方が葉ダイコンよりも小さいという結果に注目した。繁殖活動に最大のエネルギーを分配するには、成長期間中に徐々に繁殖成長に切り替えるのではなく、成長期間後期に一気に切り替えるのがよいことが理論的に示されている(横井ら 1978、巖佐ら 1984)。これは貯蔵器官に最大のエネルギーを蓄える場合にも同様であり、成長初期からシンクが肥大するハツカダイコンの全体のバイオマスが小さいのはこのためである。したがって、高 CO<sub>2</sub> 条件における光合成のダウンレギュレーションが起こらないようにすることのみに注目しても、植物全体の CO<sub>2</sub> 固定能を最大にすることはできない。そこで、まず、地下部の肥大が起こるメカニズムを明らかにするために、彦坂 CREST チーム全体でモデル植物として指定されているハツカダイコン(コメント)と、葉ダイコン(小瀬菜、葉太郎)を栽培し、これらの地上部と地下部を接ぎ木して、地下部肥大の制御への地下部と地上部の関与を検討することとした。接ぎ木で得られた植物は、通

常／高 CO<sub>2</sub> 条件下における成長実験にも有用である。現在、より茎の細いミヤコグサやシロイヌナズナにおいて確立している接ぎ木法を応用したダイコンの接ぎ木の条件を検討している。

#### <花田グループ>

近年シロイヌナズナでは多数の生態株の SNP が決定されている。本研究では、彦坂グループによって定常 CO<sub>2</sub> 下および高 CO<sub>2</sub> 下の植物体量の増加率が定量された 31 個の生態株に着目している。これらの 31 個の生態株と植物体量の増加率を材料にして、高 CO<sub>2</sub> によって植物体量が増加する生態株で共通している SNP を同定した。しかし、同定された SNP 近辺に存在する遺伝子は数多く存在する(1000 個以上)ため、遺伝子発現の点でも、高 CO<sub>2</sub> によって植物体量が増加する生態株と増加しない生態株で共通して発現している遺伝子群を比較トランスクリプトーム解析によって見出した。

トランスクリプトーム解析からは、オーキシンの生合成に関係する遺伝子の発現が、高 CO<sub>2</sub> 下で植物体量の増加する生態株で上昇していることを明らかにした。オーキシンは、様々な段階での植物の成長に必須な植物ホルモンであるために、理解しやすい結果である。しかし、他の成長ホルモンに関係する遺伝子に大きな変動がないことは興味深く、CO<sub>2</sub> を有効利用するため重要な働きをするホルモンである可能性もあることを示唆していた。

一方で、植物体量が高 CO<sub>2</sub> 下で増加する生態株で共通している SNP 近辺に存在する遺伝子のなかで、植物体量が高 CO<sub>2</sub> 下で増加する生態株でのみで発現が変動している遺伝子は、4つしか存在しなかった。これらの4つの遺伝子は、高 CO<sub>2</sub> 下での植物体量の増加率に強く関係している可能性がある。そこで、今後は、高 CO<sub>2</sub> によって植物体量が増加する生態株と増加しない生態株のそれぞれで、各遺伝子の過剰発現体と抑制体を作製し、それらの突然変異体の高 CO<sub>2</sub> 下および定常 CO<sub>2</sub> 下での成長率を調べる。さらに、それぞれの突然変異体で、オーキシンの含有量を定量し、これらの遺伝子がオーキシンの生産に影響を与えているかを調べる予定である。

#### <森長グループ>

CO<sub>2</sub> 濃度上昇に対する進化的応答を明らかにするために、ハクサンハタザオの現生個体と標本個体を用いて、6 つの野生集団における複数の CO<sub>2</sub> 応答関連遺伝子の時空間動態を解析した。その結果、複数の遺伝子において集団内アミノ酸変異が見つかり、いくつかの集団では対立遺伝子頻度が時間的に変動していることが明らかとなった。また、次世代シーケンサーilluminaGAIIxを用いて、一個体についてのゲノム解析を行い、およそ 25000 個の遺伝子を同定した。2012 年度においては、CO<sub>2</sub> 濃度上昇とともに気温上昇の影響を評価するために緯度と標高勾配にも着目し、次世代シーケンサーを用いてよりゲノムワイドな多型解析を進め、将来の地球環境に最適な形質を付与する可能性のある候補遺伝子を探索する。

ハマダイコンについて全国の植物標本庫・博物館において分布情報を調査したところ、台湾から北海道まで広く分布し、浜辺だけでなく湖沼や河川の沿岸にも分布することが分かった。そこで、はじめに沖縄集団の調査地を選定し、サンプリングをおこなった。2012 年度において、さらに調査集団を大幅増やしてサンプリングをおこない、表現型解析とゲノム解析を進める予定である。