

「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24年度採択研究代表者

H24 年度 実績報告

重岡 成

近畿大学農学部・教授

シンク／ソース同時改良による植物生産性強化の基盤開発

§1. 研究実施体制

(1)「近畿大」グループ

① 研究代表者: 重岡 成 (近畿大学農学部、教授)

② 研究項目

- ・遺伝子導入によるサツマイモの生産性増大及びストレス耐性能付与とその評価

(2)「奈良先端大」グループ

① 主たる共同研究者: 横田 明穂 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科、教授)

② 研究項目

- ・ジャガイモにおけるシンク器官の機能強化遺伝子の解析とソース機能強化遺伝子とのシナジー評価
- ・イモ類の葉緑体形質転換法の確立と生産機能強化への応用

(3)「筑波大学」グループ

① 主たる共同研究者: 菊池 彰 (筑波大学生命環境系、講師)

② 研究項目

- ・環境ストレス耐性遺伝子組換えイモ類の作出と選抜
- ・第一種使用に向けた試験栽培と生物多様性影響評価試験
- ・リスク管理に関わる基盤研究

(4)「植物ハイツック研」グループ

① 主たる共同研究者：牛山 敬一（株式会社植物ハイツック研究所、研究開発部長）

② 研究項目

・イモ類の葉緑体形質転換法の確立と生産機能強化への応用

§2. 研究実施内容

研究のねらい

本研究では、単位耕作面積当たりの収穫量とハーベストインデックスが植物中ではほぼ最大であるイモ類、すなわち中緯度地域向けのジャガイモ、中緯度から赤道近く向けのサツマイモを研究対象植物に用い、光合成カルビン回路の律速である 2 つのホスファターゼ反応をラン藻由来のフルクトース-1,6-ビスホスファターゼ/セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ (FBP/SBPase) で強化し、同時に野生種スイカの乾燥時の根の急速な発達に関わる *CLRANGTPase1* 遺伝子及び *CLZFB1* 遺伝子をサツマイモ及びジャガイモに導入することによって、個々の遺伝子の生産機能強化能力を評価するとともに、ソースとシンク間の代謝連携を解析する。その中で、サツマイモの根の発達や塊根の肥大化、ジャガイモのストロンの形態形成や塊茎肥大化に機能する遺伝子を明らかにし、既存の環境耐性遺伝子も、これら生産機能強化遺伝子とともにイモ植物に導入することにより、植物生産機能を生産力、環境耐性能力両面から強化する。また、イモ類の葉緑体形質転換法を確立して、その技術を生産機能強化へ応用する。これらの形質転換植物を隔離ほ場レベルで評価し、実用化に向けた植物生産性強化の技術基盤を整備する。

これまでの研究の概要

ラン藻 FBP/SBPase をモデル植物(タバコ、シロイヌナズナ、レタスなど)の葉緑体で発現させることによって、光合成機能向上および生育促進が見られることを明らかにしてきた。また、野生種スイカの急速な根の発達機構を解析する中で、*CLRANGTPase1* 遺伝子及び *CLZFB1* 遺伝子を見出した。野生種スイカの根発達因子 *RanGTPase1* (*Ran1*) 遺伝子とソース組織の光合成機能強化遺伝子(ラン藻由来の *FBP/SBPase* 遺伝子)を共にジャガイモで発現させた場合(核 DNA 形質転換体)、シンク組織である塊茎の高収量をもたらすという実験結果を得ている。しかし、これまでの遺伝子導入株では導入遺伝子の発現が安定ではなく、植物育成装置で見られた表現系は安定的には再現されていない。一方、*FBP/SBPase* 遺伝子をタバコ葉緑体 DNA へ形質転換した場合、光合成機能を強化できることを報告しており、この葉緑体 DNA 形質転換技術を他植物へ水平展開させることに成功している。

研究進捗状況および成果

ラン藻由来の *FBP/SBPase* 遺伝子を 35S プロモーター制御下で葉緑体に発現させた形質転換体 (Ip35FS 株) から数系統の光合成強化株を選抜し、グロースチャンバーでの生育比較、光合成

特性の解析に適した栽培条件の検討を行った。現在、筑波大学の特定網室で解析を行うための準備を進めている。また、サツマイモ緑色光合成器官で明期特異的に発現させるためのプロモーターとして、ジャガイモルビスコアクティブースプロモーター (**pStrbcAc**) およびサツマイモルビスコスモールサブユニットプロモーター (**pIbrbcS**) を単離し、サツマイモ形質転換用ベクターの構築を行っている。さらに、**CLRANGTPase** 遺伝子およびシロイヌナズナから単離した抗ストレス遺伝子 (**HsfA2**) を恒常的に発現させる為に **CaMV35S** プロモーターに連結した導入用プラスミドを構築し、サツマイモへ導入・選抜を行っている。

今後の見通し

35S プロモーター制御下で **FBP/SBPase** を葉緑体に発現させた形質転換体 (**Ip35FS** 株) から数系統の光合成強化株を選抜し、現在グロースチャンバー内での生育比較、光合成特性の解析から有望株を選抜し、筑波大学の特定網室での評価を進める。一方、**FBP/SBPase** を緑色光合成器官で明期特異的に発現させたサツマイモ作出に向け、ジャガイモ **rbcAc** プロモーターおよびサツマイモ **rbcS** プロモーター制御下で **FBP/SBPase** を発現させる為のプラスミドの構築、サツマイモへの導入を行い、引き続き筑波大学の特定網室解析へと進める。サツマイモ腋芽形成時に特異的に誘導される遺伝子群を、サツマイモ外植片 *in vitro* 腋芽形成系を用いてサブトラクション法により明らかにする。その中から発現量の高い遺伝子に関して、プロモーター解析を行い、サツマイモ腋芽での **CLRANGTPase** 遺伝子および **CLZFB1** 遺伝子高発現に適したプロモーターの探索および形質転換体の作出を行う。また、シロイヌナズナ **HsfA2** を導入したサツマイモを選抜し、形質転換体を取得後、実験室レベルでのストレス耐性能評価を行う。マンダリン遺伝子導入ジャガイモに関しては、今後も導入系統を増やすとともに、5 系統ほどの耐塩性個体を選抜し、特定網室における生産力検定を **H25** 年度着手できるよう研究を推進する。

植物組織において時間的・空間的に適合した箇所における **Ran1** 遺伝子の制御発現を実現するために、内生 **Ran1** 遺伝子と時間的・空間的な共発現遺伝子を把握して、そのプロモーターを利用した発現系を構築する。本年度作成したジャガイモ・アミノ酸コード配列 **DB** 情報を基に設計したカスタム・アレイスライドを用いたアレイ解析情報を基に、発現レベルの高い共発現遺伝子を把握し、そのプロモーターを取得する。また、**Ran1** 遺伝子とは別の野生スイカの根発達因子、**ZFB1** 遺伝子の強制発現ジャガイモの作出・解析を行う。

葉緑体形質転換タバコの特網室試験の実施に係る大臣確認実験承認を得る。薬剤耐性遺伝子および **FBP/SBPase** 遺伝子、**katE** 遺伝子を撃ち込んだ形質転換シュート候補における標的遺伝子の導入状態を解析し、ジャガイモ葉緑体形質転換法の構築を目指す。同時に、サツマイモ葉緑体形質転換ベクターを開発し、サツマイモの葉緑体形質転換のための薬剤選抜条件と再分化条件を確立する。

冬季の網室栽培では昼間に強い乾燥が予想され、光合成能を強化した組換え体の評価を行う場合、乾燥が生産性等に影響を及ぼす可能性が考えられる。晴天日では温度上昇の激しい午後に湿度の低下は避けられず、特定網室内の加湿条件の検討、栽培期の調整が必要であるため、

組換え体の栽培および解析に適した条件検討を行う。同時に、他の研究グループが作製した組換え体について、遺伝子組換え実験申請を行い、組換え体の譲渡を受けて、材料の増殖に着手する。先行して得られた組換え体の特定網室栽培を目指す。