

未来社会創造事業 探索加速型  
「地球規模課題である低炭素社会の実現」領域  
年次報告書(探索研究)

H30 年度 研究開発年次報告書
---------------------

平成 29 年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：藤田 祐一]

[名古屋大学大学院生命農学研究科・教授]

[研究開発課題名：空気を肥料とする窒素固定植物の創出]

実施期間：平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日

## §1. 研究開発実施体制

### (1)「藤田」グループ(名古屋大学)

- ① 研究開発代表者:藤田 祐一 (名古屋大学大学院生命農学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・遺伝子導入によるニトロゲナーゼ活性向上
  - ・トランスポゾン導入による選抜・遺伝子同定

### (2)「松尾」グループ(名古屋大学)

- ① 主たる共同研究者:松尾 拓哉 (名古屋大学遺伝子実験施設、講師)
- ② 研究項目
  - ・緑藻クラミドモナス葉緑体 DNA への窒素固定遺伝子導入と発現制御

### (3)「山篠」グループ(名古屋大学)

- ③ 主たる共同研究者:山篠 貴史 (名古屋大学大学院生命農学研究科、准教授)
- ④ 研究項目
  - ・シロイヌナズナにおける窒素固定遺伝子発現の概日制御と器官特異的制御

### (4)「和田」グループ(宮崎大学)

- ① 主たる共同研究者:和田 啓 (宮崎大学医学部、准教授)
- ② 研究項目
  - ・窒素固定関連タンパク質の構造解析

## §2. 研究開発実施の概要

窒素固定能の植物への付与を目指し、シアノバクテリア、緑藻、シロイヌナズナを用い、各々、窒素固定 (*nif*) 遺伝子を導入した非窒素固定性シアノバクテリアのニトロゲナーゼ活性の向上、葉緑体でのニトロゲナーゼ発現における時間的隔離、空間的隔離の実効性について検討している。*nif* 遺伝子群導入シアノバクテリア形質転換体 CN1 での活性は、研究開始当初、元株の 0.3% (細胞乾燥重量比)であったが、活性酸素除去系の導入、有機酸添加等により最大 1.4%まで向上させた(藤田 G)。緑藻でのニトロゲナーゼの時間的隔離による発現を目指し、葉緑体 DNA の 69 遺伝子の概日リズム測定を行い、10 遺伝子が夜型発現リズムを示し、これらのプロモーターが時間的隔離のために利用できる可能性を見出した。ニトロゲナーゼの還元コンポーネントである Fe タンパク質(NifH)は、酸素による不活性化の主要ターゲットであり、単独で活性型となるため、葉緑体におけるニトロゲナーゼ発現の実効性を検討する POC である。そこで、緑藻において *nifH* 遺伝子を葉緑体 DNA に導入した形質転換体を単離しその発現を確認した(松尾 G)。シロイヌナズナではニトロゲナーゼの空間的隔離による機能発現を目指し、NifH を発現する形質転換体の単離を進め、葉緑体局在型 NifH が花茎と根(軸性器官)において安定に発現することを確認した。(山篠 G)。*nif* 遺伝子の転写制御タンパク質 CnfR の構造に基づく活用を目指し、結晶構造解析に必要な CnfR 発現系を確立した。さらに、酸素に対する耐性が約 20%向上した改変 CnfR を作出した(和田 G)。