

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  
終了報告書(探索研究期間)

令和3年度  
研究開発終了報告書

平成30年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名:藤原 徹]

[東京大学 大学院農学生命科学研究科 教授]

[研究開発課題名:ゲノム・転写・翻訳統合ネットワーク解析を通じたバイオコールド生産  
のための草本作物の木質化技術開発]

実施期間 : 平成30年11月15日～令和4年3月31日

## §1. 研究実施体制

### (1)「東京大学」グループ(東京大学)

① 研究開発代表者:藤原 徹 (東京大学大学院農学生命科学研究科 教授)

#### ② 研究項目

- ・ソルガム遺伝資源の栽培・茎葉部のリグニン分布調査
- ・ソルガムバイオマスのイオノーム解析
- ・リグニンデータに基づいた GWAS による主働遺伝子候補の探索
- ・交配親系統の選定と交配による優良系統確立
- ・ゲノミック予測モデルの構築

### (2)「北海道大学」グループ(北海道大学)

① 主たる共同研究者:内藤 哲 (北海道大学大学院農学研究院、教授(2018-2019 年度)・特任教授(2020 年度))、2021 年度:山下由衣(北海道大学大学院農学研究院、助教)

#### ② 研究項目

- ・ソルガムの低栄養栽培と RNA サンプル収集
- ・ソルガムにおける Ribo-seq 法の確立と各形質と相関の高い転写翻訳ネットワークの抽出  
(いずれも東京大学グループと共同)

### (3)「岡山大学」グループ(岡山大学)

① 主たる共同研究者:坂本 亘 (岡山大学植物資源科学研究所、教授)

#### ② 研究項目

- ・ソルガム RILs を用いたリグニン蓄積・カドミウム蓄積に関与するゲノム領域の探索
- ・有望系統を用いたケニア貧栄養地・半乾燥地での栽培試験の準備のための現地訪問とケニア側研究者との打ち合わせと協定締結

### (4)「京都大学」グループ(京都大学)

① 主たる共同研究者:梅澤 俊明 (京都大学生存圏研究所、教授)

#### ② 研究項目

- ・ソルガムのリグニン含量の測定

### (5)「信州大学」グループ(信州大学)

③ 主たる共同研究者:高橋 伸英 (信州大学繊維学部、教授)

#### ④ 研究項目

- ・ソルガムバイオマスの熱量測定

## §2. 研究実施の概要

本研究はバイオマス生産に優れたソルガムの燃料としての価値をたかめるためにリグニン含量の増加や栽培特性の改善をゲノミック選抜に基づく育種によって進めることを目的とした。東京大学、北海道大学、岡山大学

から成る研究グループで平成 30 年度にスタートし、それぞれの持つ資源や測定技術を駆使して目標達成を目指した。また、2019 年度からは京都大学、2020 年度からは信州大学が参画し、それぞれリグニン含量の測定および熱量測定を担当した。東京大学および岡山大学グループでは、多くのソルガム純系系統や組換え近交系(RILs)の栽培を行い、バイオ燃料において重要な形質の測定を主に成熟個体について行った。具体的にはバイオマスとリグニン含量に加え、低減すべき元素としてカリウム、塩素、カドミウムを重点的に分析し、ソルガム遺伝資源における各形質値とゲノム配列の取得を行った。これらの形質に関与する遺伝的多型情報を集積すべく、遺伝学的アプローチによる関連 QTL の同定を進めた。リグニン蓄積関連遺伝子の探索においては、マイクロームを用いて成熟個体の茎部から切片を作成し、フロログルシノール染色と切片画像の機械学習により組織中のリグニン蓄積の分布を定量した。また近赤外線分析法を用いることでソルガム成熟個体に適用可能なハイスループットなリグニン含量推定法を確立した。これらの数値をもとに、バイオ燃料に資すると予想されるソルガムのゲノム領域に存在する多型をリスト化した。さらに具体的な遺伝子が同定できれば形質値に直接関与する多型情報をゲノミック予測モデルに組み込むことが可能である。リグニン含量データを用いた GWAS 解析では、リグニン含量と有意に関連するゲノム領域を特定し、そこに座する遺伝子群から責任遺伝子を絞り込み、形質転換が容易なイネを用いた遺伝子機能の評価によって、破壊すると有意にリグニン含量を向上する遺伝子を同定することに成功した。この遺伝子はリグニン蓄積量に影響を与える報告がなされていない新規のリグニン蓄積関連遺伝子であった。さらに逆遺伝学的アプローチによって、さまざまな植物種でリグニン生合成遺伝子発現を最上流で制御するといわれている転写因子についてイネで初めてその関与を明らかにした。

有害元素であるカドミウム蓄積関連 QTL の探索においては、岡山大学グループでは、RILs を用いた QTL 解析により、ソルガムでは初めて機能的なカドミウム輸送体 *SbHMA3a* の同定に成功した。

純系系統の圃場栽培データから選抜した主に高バイオマス・低肥料耐性を示した有望系統の交配と後代分離世代の栽培試験・選抜を継続し、低肥料条件でのバイオマス生産性を向上させた優良系統を作出しつつ同時進行でゲノミック選抜の試験集団を作成した。作出した優良系統はケニアで試験栽培を行うことで、バイオマス収量、リグニン収量と熱収量の基礎データを得ることができた。リグニン含量と熱量の測定はそれぞれ京都大学グループまたは信州大学グループにより行われた。

北海道大学のグループでは、翻訳中の遺伝子の定量的な発現データを取得できる Ribo-seq 法をソルガム用に最適化した。シロイヌナズナで確立されている Ribo-seq 法では夾雑物の多いソルガムのサンプルに適用できなかったが、条件検討を重ね、リファレンスゲノム系統である BTx623 を用いてシロイヌナズナと遜色ない品質の解析サンプルを調製できるようになった。リグニン生合成において重要な S-adenosylmethionine が硫黄代謝物であることから、ソルガムの硫黄欠乏条件での栽培を行い、ソルガムで初めての Ribo-seq 解析を行った。その結果、硫黄の吸収・転流・同化に関わる遺伝子については mRNA レベルでの制御が主に働いている一方で、リグニン合成に関わる遺伝子には翻訳レベルでの制御が主要であるものが多く見られた。

最後にこれらの情報をゲノミック選抜に用いるための形質予測モデルの構築を行った。これまでに取得済みの RNA-Seq データと公共データベースから取得したデータ(計 104 サンプル)を用いて、リグニン生合成に関与する共発現ネットワークを作成し、この共発現ネットワークが 13 のモジュールから構成されることが判明した。各モジュールを制御する明確な少数のハブ遺伝子が示されなかったことから、多数の転写因子それぞれが中程度にリグニン生合成遺伝子を制御していることが示唆された。この転写レベルでの共発現ネットワーク、つまり同定したモジュールを構成するリグニン生合成遺伝子および共発現する転写因子遺伝子すべての遺伝子配列における多型情報、を組み込んだ共発現ネットワークモデルを構築し、ゲノム配列からリグニン含量がどの程度の精度で予測されるかを様々なモデルと比較評価したところ、共発現ネットワークモデルによって予測精度は向上しなかった。研究期間内にこの共発現ネットワークを組み込んだ予測モデルの有用性を明示することができな

かったが、これはおそらく Ribo-seq の結果が示したように、リグニン合成にかかわる遺伝子は翻訳レベルでの制御が重要であり、多数の Ribo-seq データを用いて共発現ネットワークを作成する必要があったのだと推測している。

#### 主要な成果

Sorghum Ionomics Reveals the Functional SbHMA3a Allele That Limits Excess Cadmium Accumulation in Grains

F Wacera Wahinya, K Yamazaki, Z Jing, T Takami, T Kamiya, H Kajiya-Kanegae, H Takanashi, H Iwata, N Tsutsumi, T Fujiwara, W Sakamoto. *Plant Cell Physiol.* (2022) 63, 713-728.

Translational Landscape of a C4 plant, Sorghum bicolor, under Normal and Sulfur Deficient Conditions

N Sotta, Y Chiba, H Aoyam, S Takamatsu, T Suzuki, K Miwa, Y Yamashita, S Naito, T Fujiwara. *Plant Cell Physiol.* (2022) 63, 592-604.

Global analysis of boron-induced ribosome stalling reveals its effects on translation termination and unique regulation by AUG-stops in Arabidopsis shoots

Sotta, N., Chiba, Y., Miwa, K., Takamatsu, S., Tanaka, M., Yamashita, Y., Naito, S. and Fujiwara, T. *The Plant Journal* (2021) 106, 1455-1467.