

表紙

遺伝子最適化・超遠縁ハイブリッド・微生物共生 の統合で生み出す 次世代CO₂資源化植物の開発

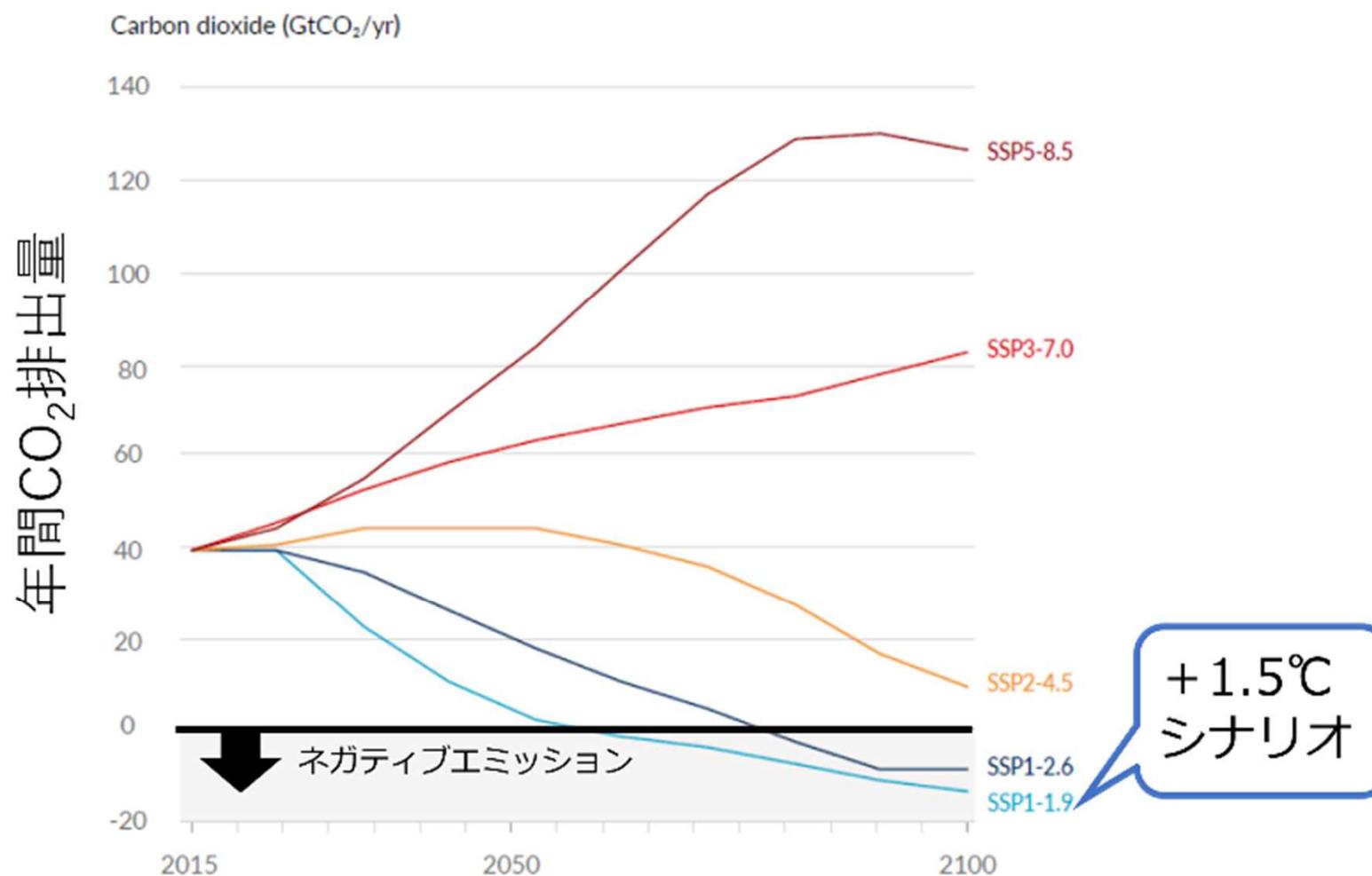


PM：光田 展隆
産業技術総合研究所 副研究部門長
PJ参画機関：産業技術総合研究所、
東京都立大学、住友林業株式会社

本技術開発が必要な背景

- 急速に進む地球温暖化を阻止するため

CO₂排出量の変化パターンに関する5つのシナリオ（IPCC6次報告書より）

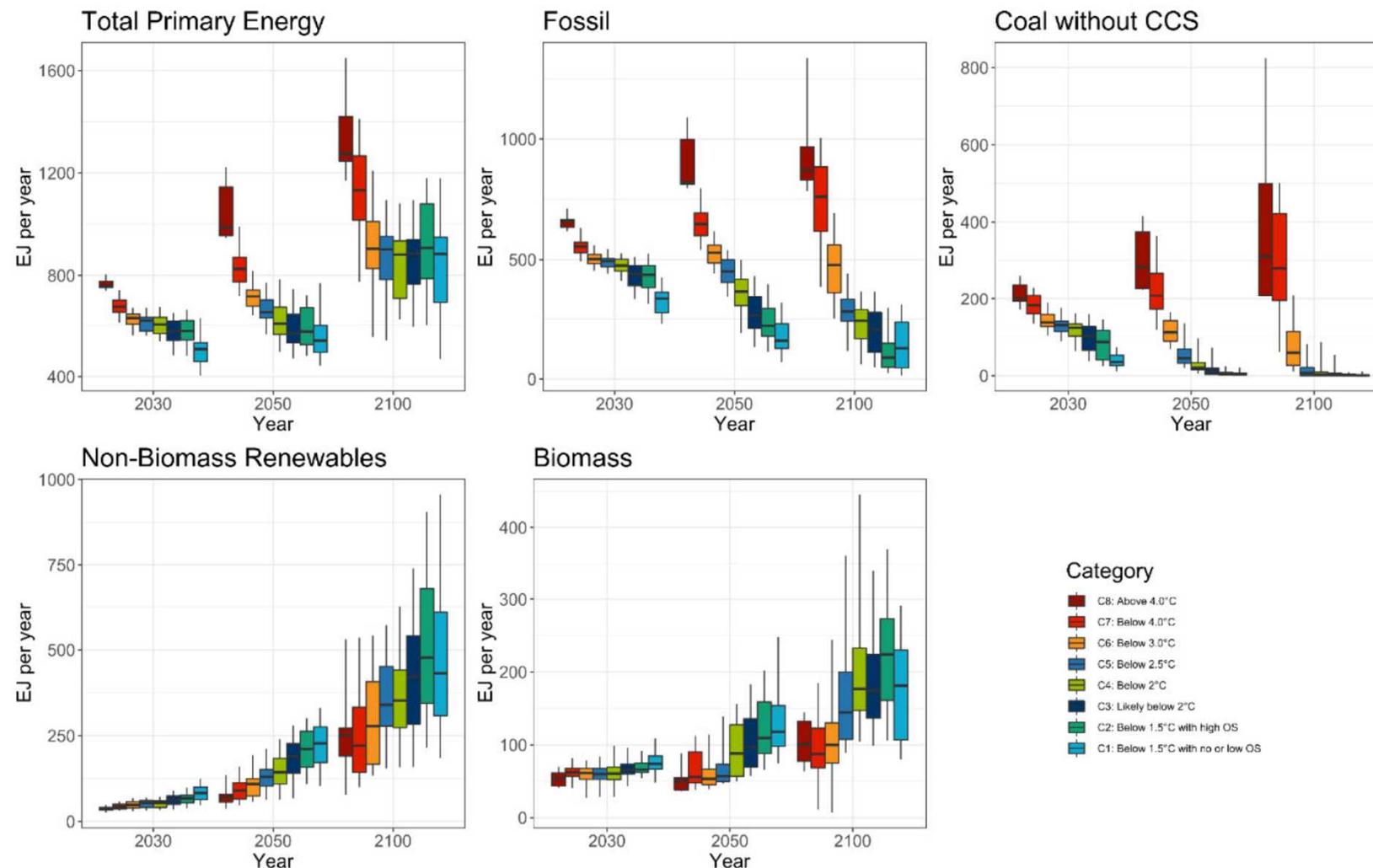


- +1.5°Cシナリオ達成のためには2023年からでもNETのCO₂排出量を減らしていく必要があり、2055年ごろにはNETでのネガティブエミッションを実現しなければならない

本技術開発が必要な背景

- +1.5°Cシナリオを達成するために・・・

各シナリオにおけるエネルギー源推移（IPCC6次報告書より）

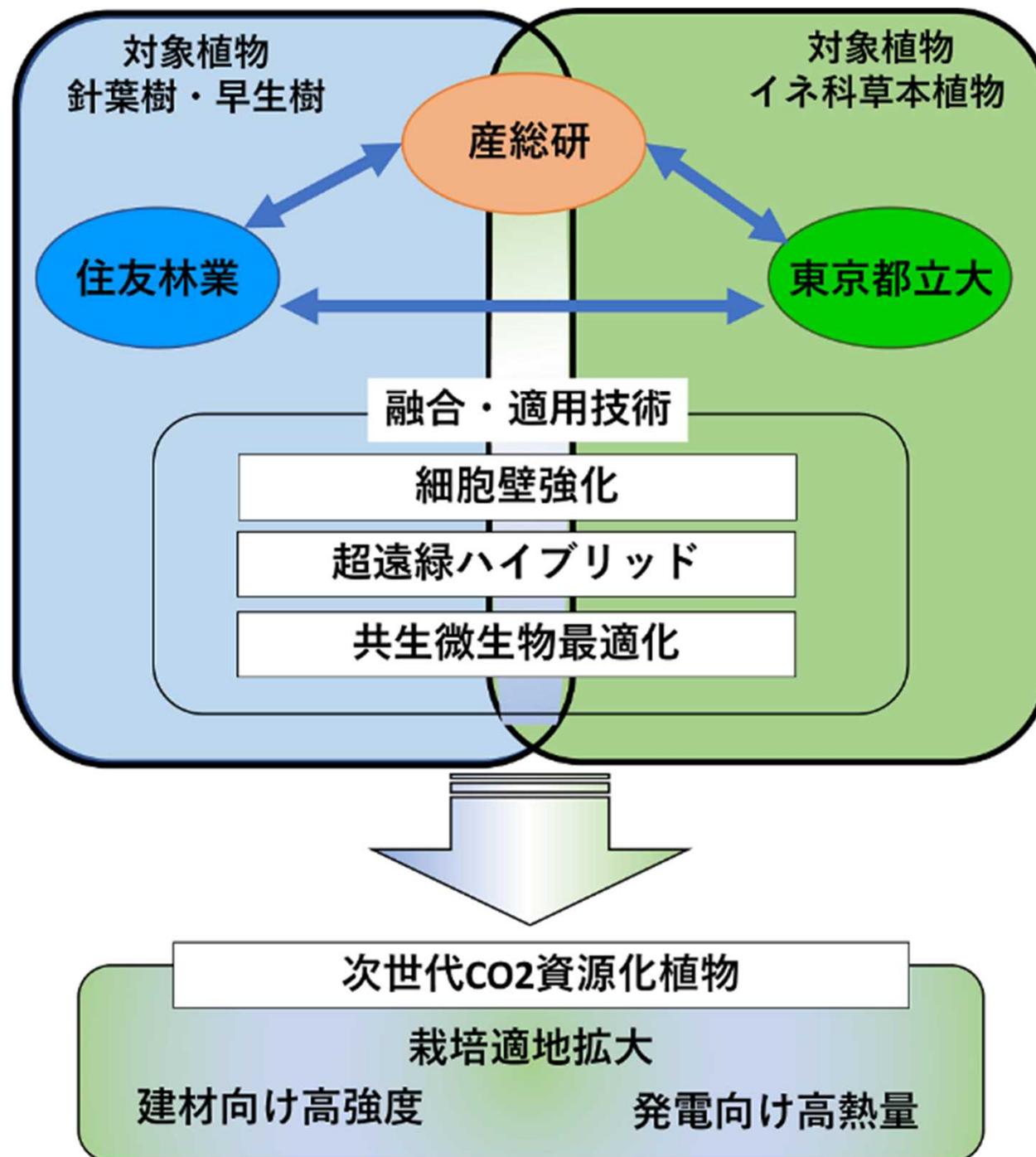


- +1.5°Cシナリオ達成のためには2100年時点で全エネルギー消費の4分の1程度をバイオマス由来で賄わなければならない！
- エネルギーに限らずバイオマスへの期待は大きい

本研究開発の概要



実施体制・研究開発目標



- 遺伝子最適化、超遠縁ハイブリッド、共生微生物最適化、それぞれについて、従来に比べて30%のバイオマス生産性向上を目指す
 - 本研究開発成果は従来育種との併用も可能
- すべてに適用可能な**共生微生物最適化をハブ**にして、短期的には超遠縁ハイブリッドと、長期的には遺伝子最適化と組み合わせ、従来に比べて50%のバイオマス生産性向上を目指す

研究開発スケジュール

	2022～2023FY	2024FY
1. 遺伝子最適化によるバイオマス増強戦略の確立	NST強化による木本・草本植物での木質増強	
	草本植物における一次細胞壁強化戦略の検証	
2. 超遠縁ハイブリッド作成技術による新植物開発法の確立	細胞融合促進技術の開発	
	超遠縁ハイブリッド作成技術による新植物の作出	
		作出した新植物の評価
3. 微生物共生による植物成長促進技術の確立	植物の成長を促進する可能性のある微生物の探索	
	同定した共生微生物が植物に与える効果の評価	

本プロジェクトの三大コア技術

- 遺伝子最適化
- 超遠縁ハイブリッド作成
- 微生物共生最適化

本プロジェクトの三大コア技術

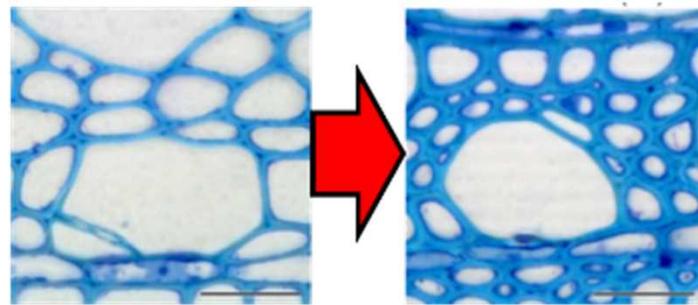
- 遺伝子最適化
- 超遠縁ハイブリッド作成
- 微生物共生最適化

遺伝子最適化によるバイオマス強化

◆三大方針

ゲノム編集技術を基本とする

1. 木質増強



木質増強

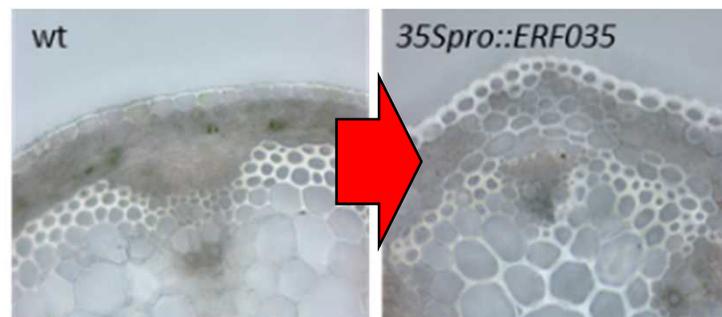
2. 強度向上

➤ 高成長以外の社会実装メリット



強度向上

3. 一次細胞壁増強 (草本系のみ)



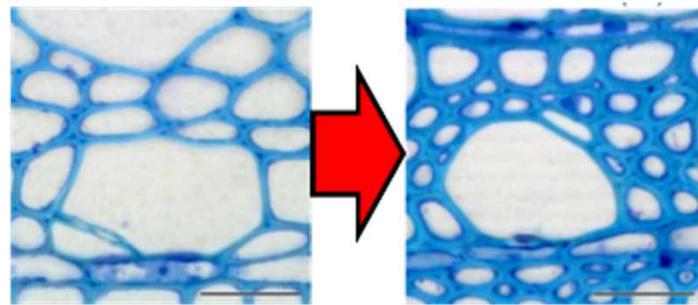
一次細胞壁増強

遺伝子最適化によるバイオマス強化

◆三大方針

ゲノム編集技術を基本とする

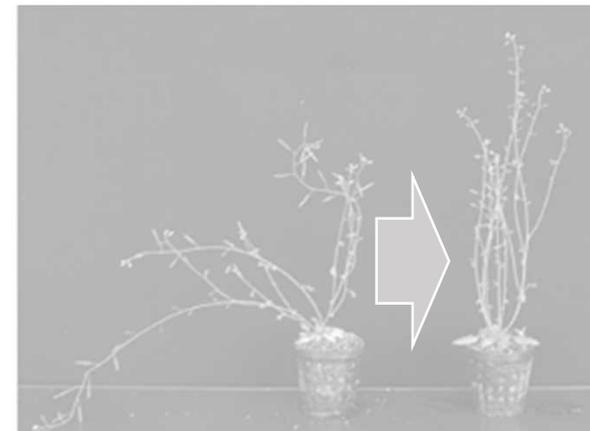
1. 木質増強



木質増強

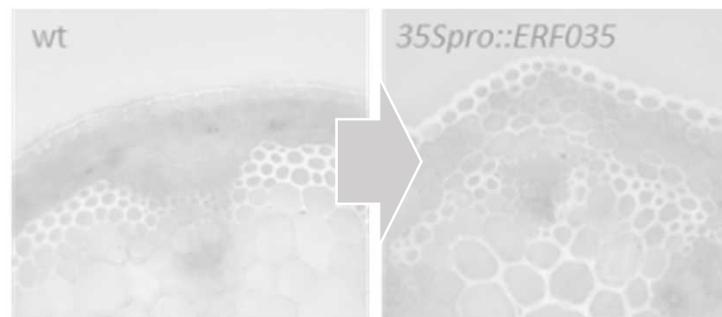
2. 強度向上

➤ 高成長以外の社会実装メリット



強度向上

3. 一次細胞壁増強 (草本系のみ)



一次細胞壁増強

研究開発内容①

計画：NST高活性化変異を活用した高強度樹木の開発

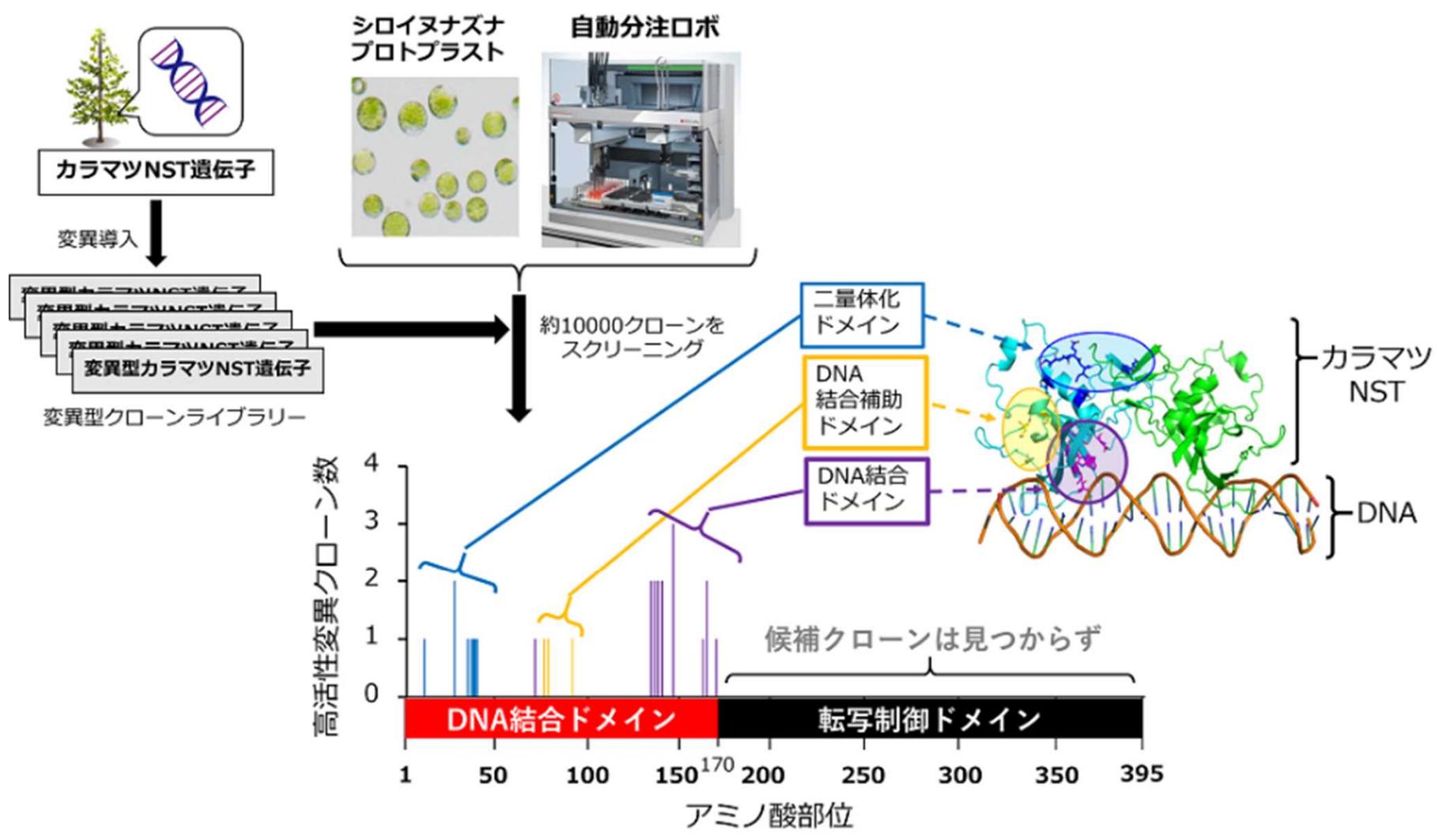
木質（二次細胞壁）形成のマスター制御因子であるNST転写因子を活性化する

■ NST転写因子とは



通常株 NST
ノックアウト

■ 高活性化型NST転写因子の同定



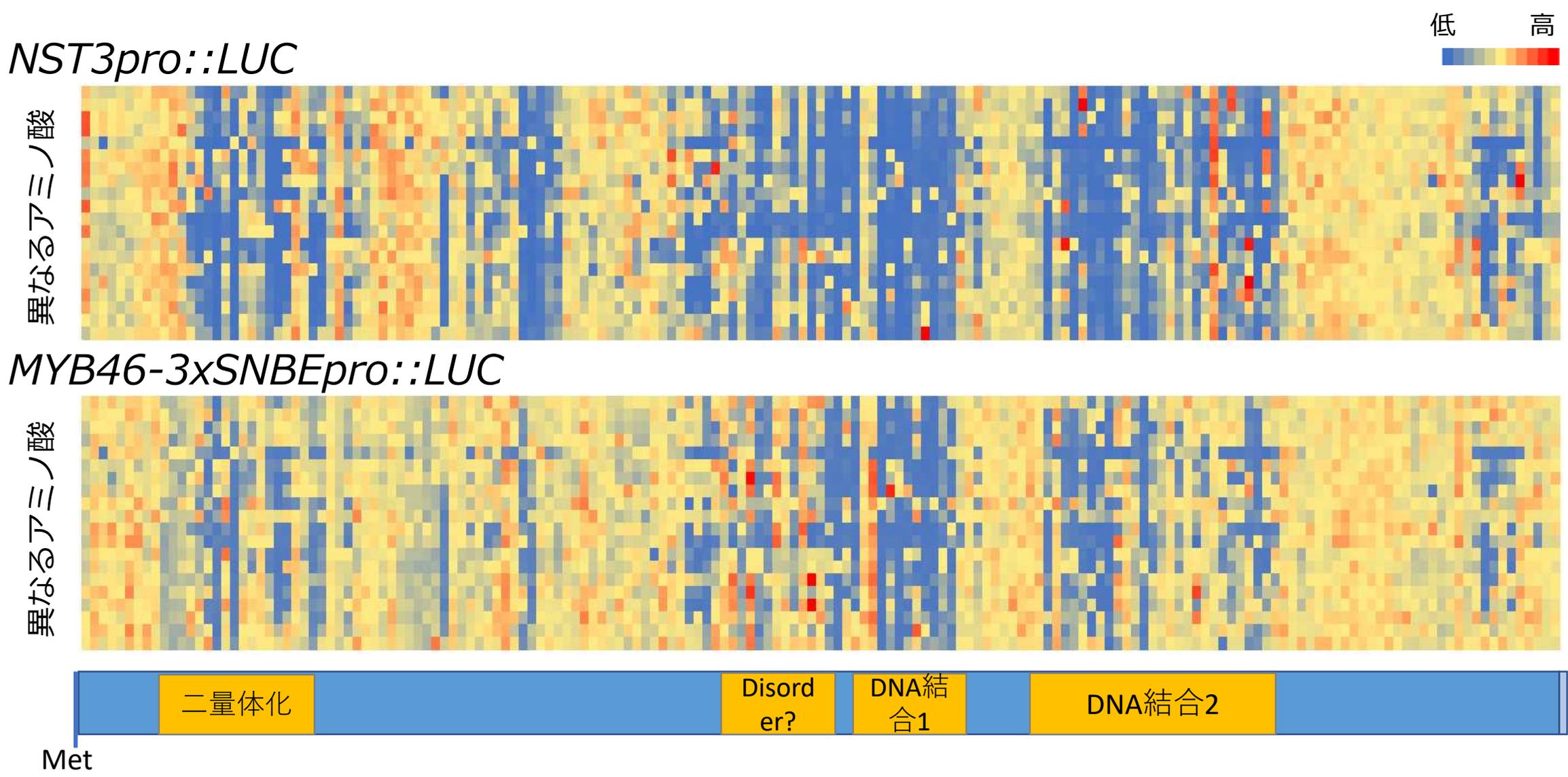
ゲノム編集による実用植物への適用技術を開発する

Takata et al., *Tree Physiol.* **39**, 514-525 (2019)

研究開発内容①

進捗：NST高活性化変異を活用した高強度樹木の開発

◆ 2種類のレポーターを活用したNST転写因子活性測定の結果

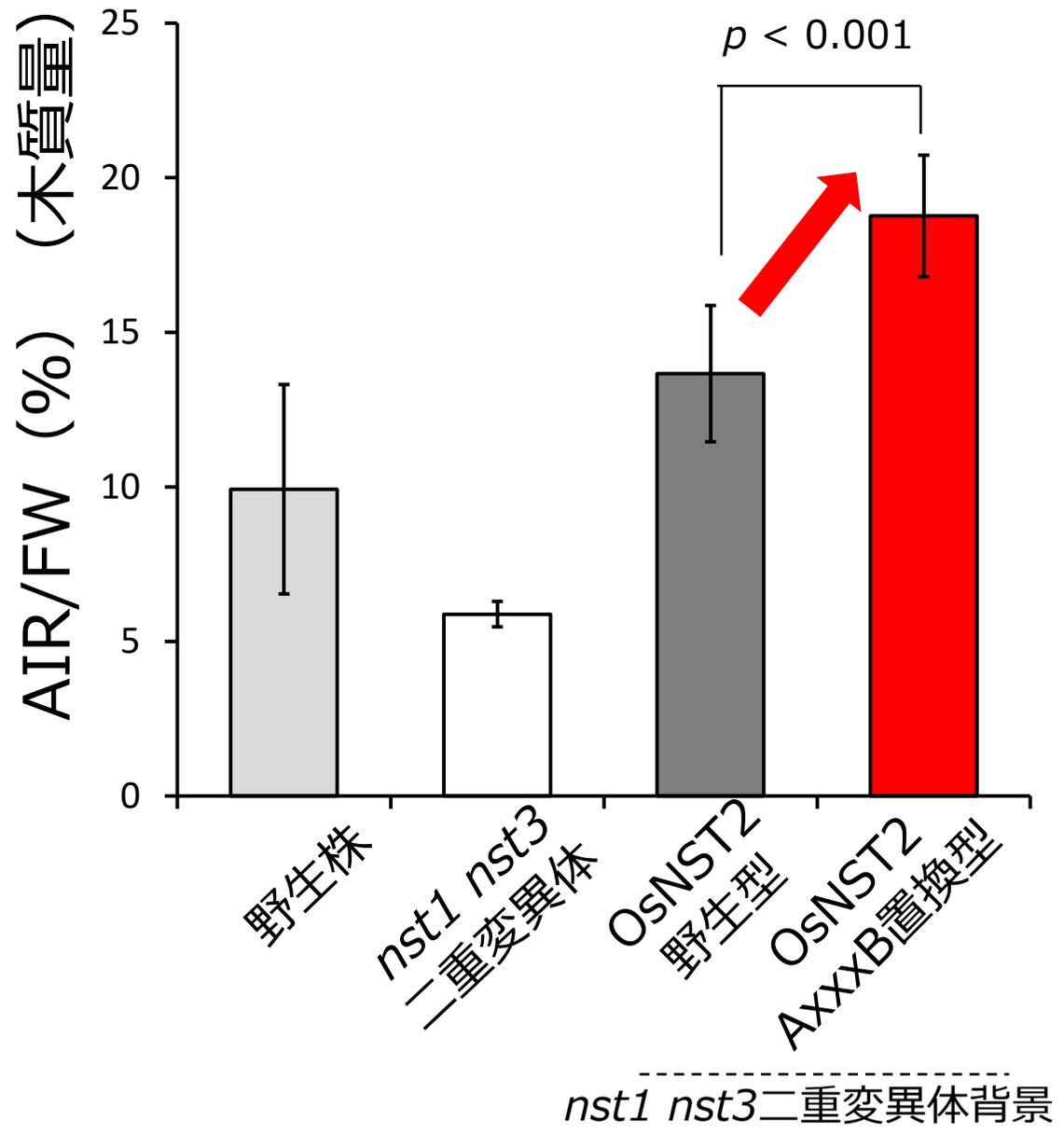
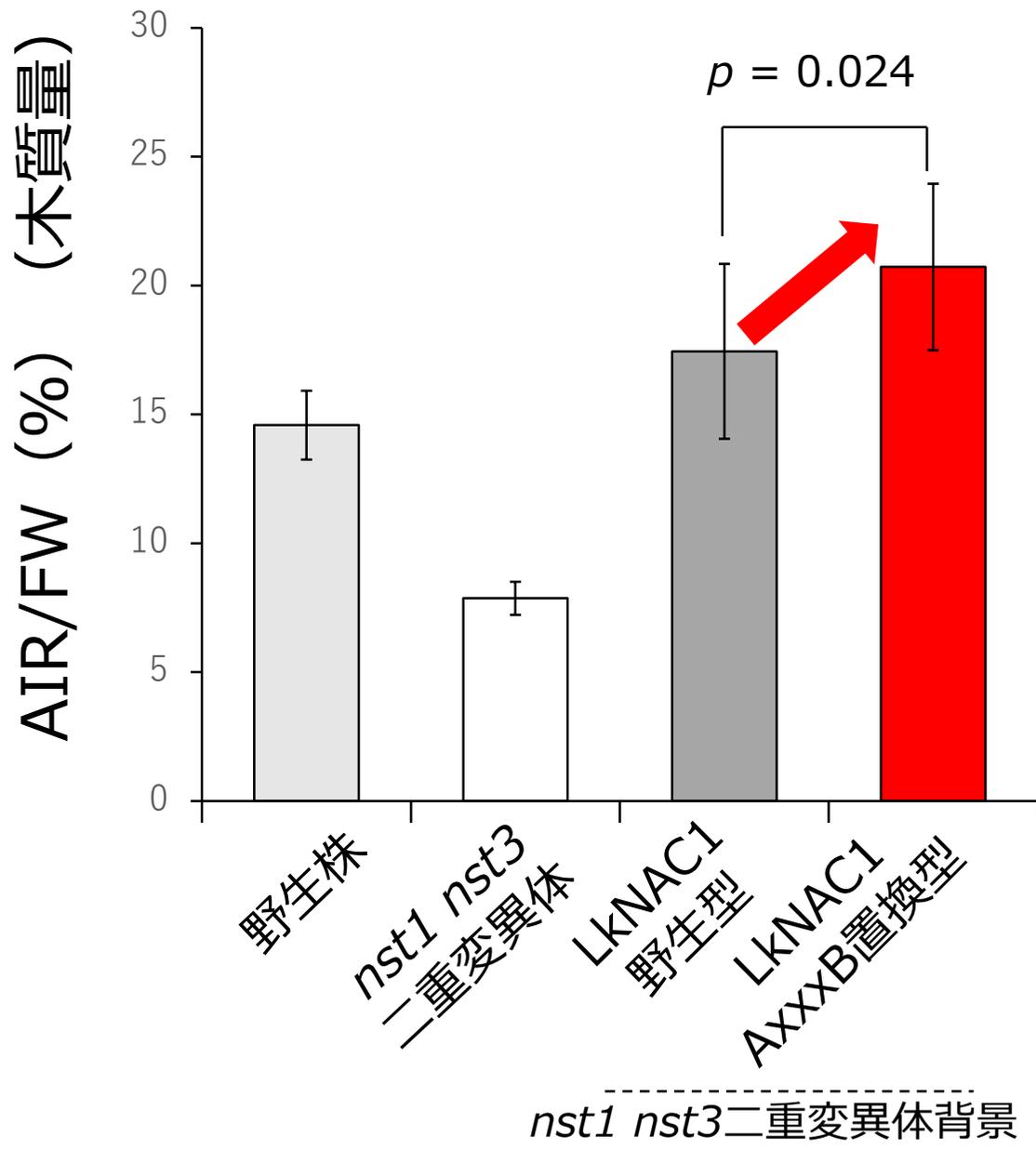


➤ NST転写因子を高活性化する変異を約60カ所同定 (産総研—住友林業BIP)

研究開発内容①

進捗：NST高活性化変異を活用した高強度樹木の開発

◆ 有望変異を持つNST転写因子遺伝子を導入したシロイヌナズナの木質量



➤ 有望変異が木質増強効果を有することをシロイヌナズナで確認 (産総研-住友林業BIP)

研究開発内容①

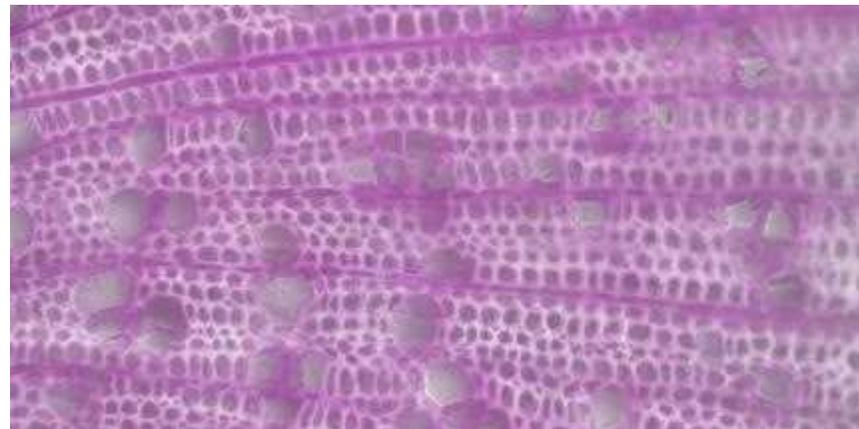
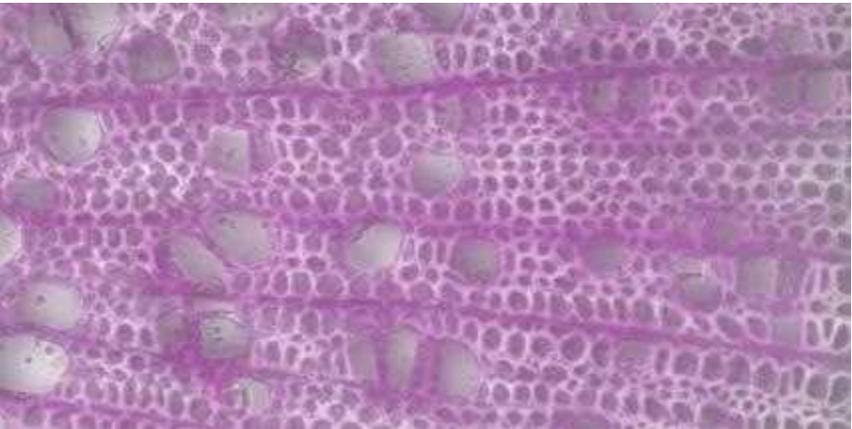
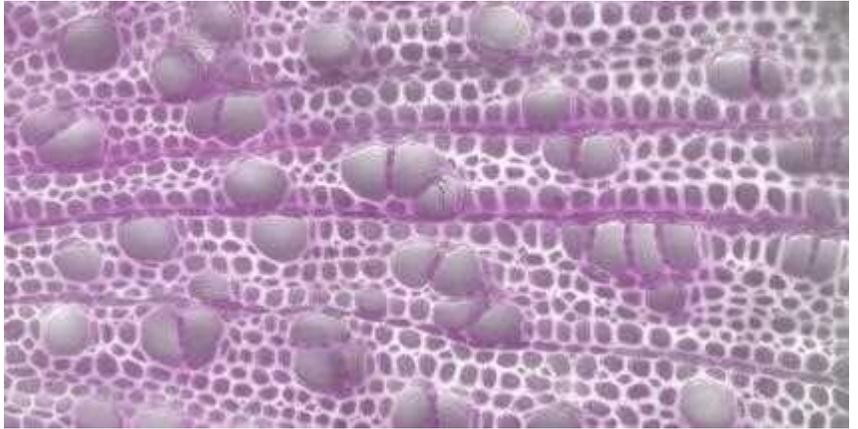
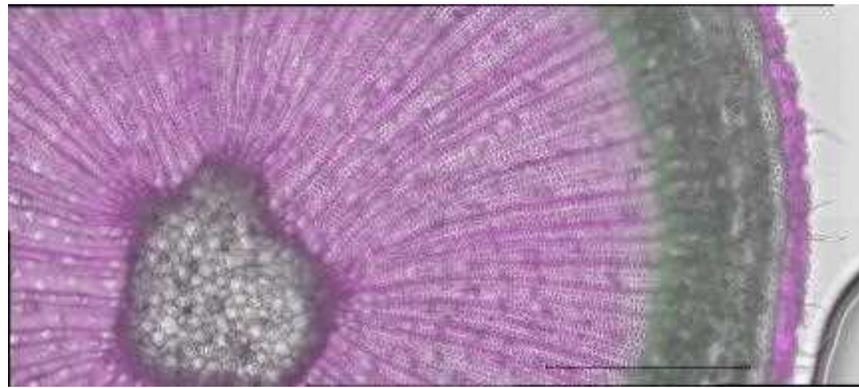
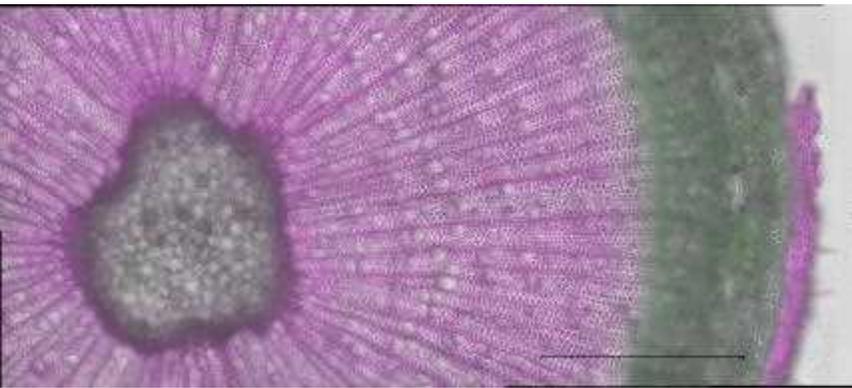
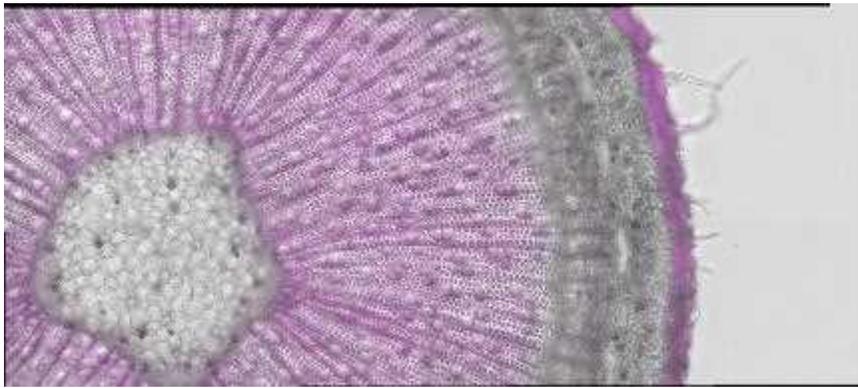
進捗：NST高活性化変異を活用した高強度樹木の開発

◆ 有望変異を持つNST転写因子遺伝子を導入したポプラの切片観察

LkNAC1導入
(置換なし)

高活性化型LkNAC1導入
(AxxxB)

高活性化型LkNAC1導入
(AxxxB + GzyxH)



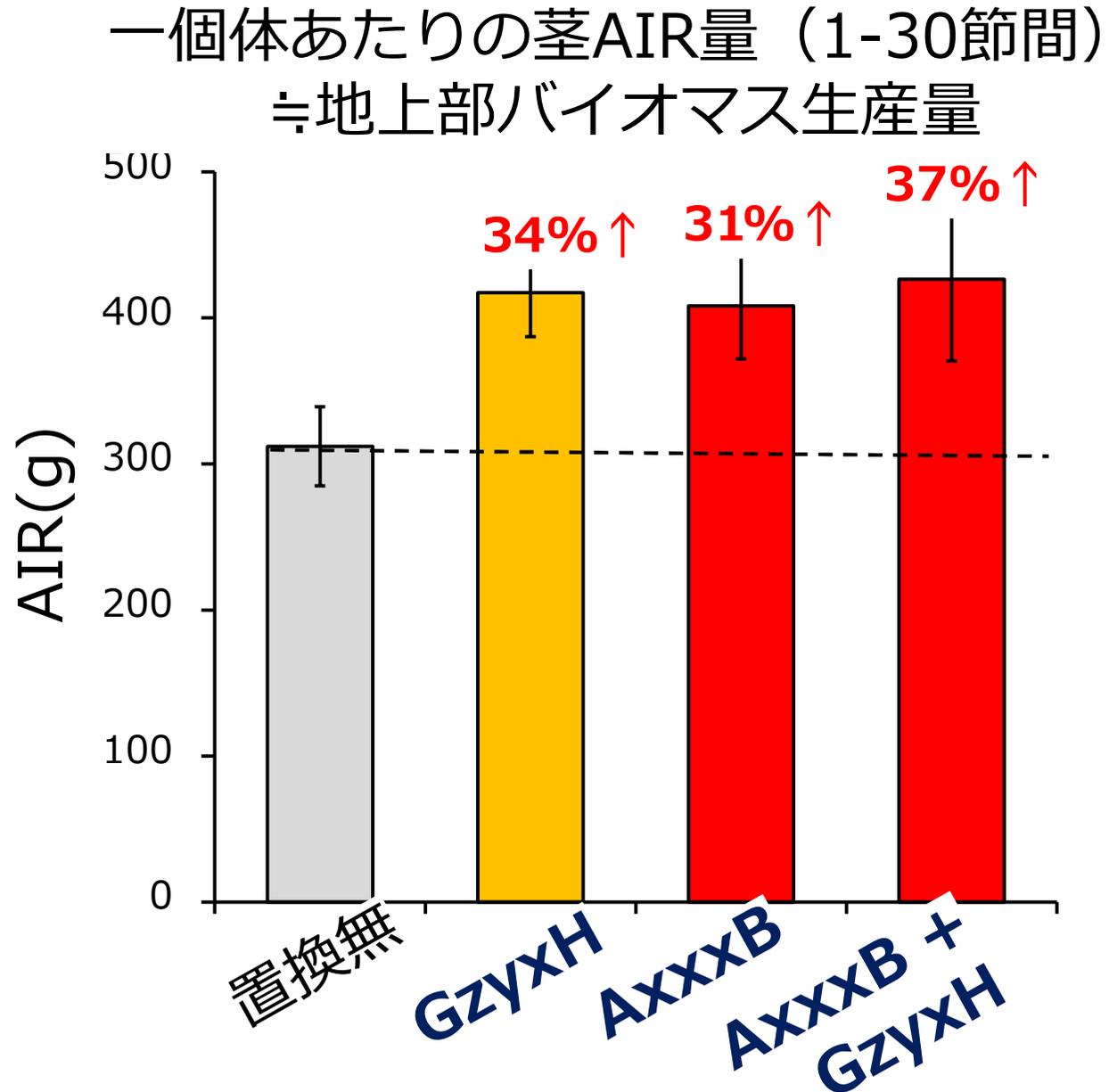
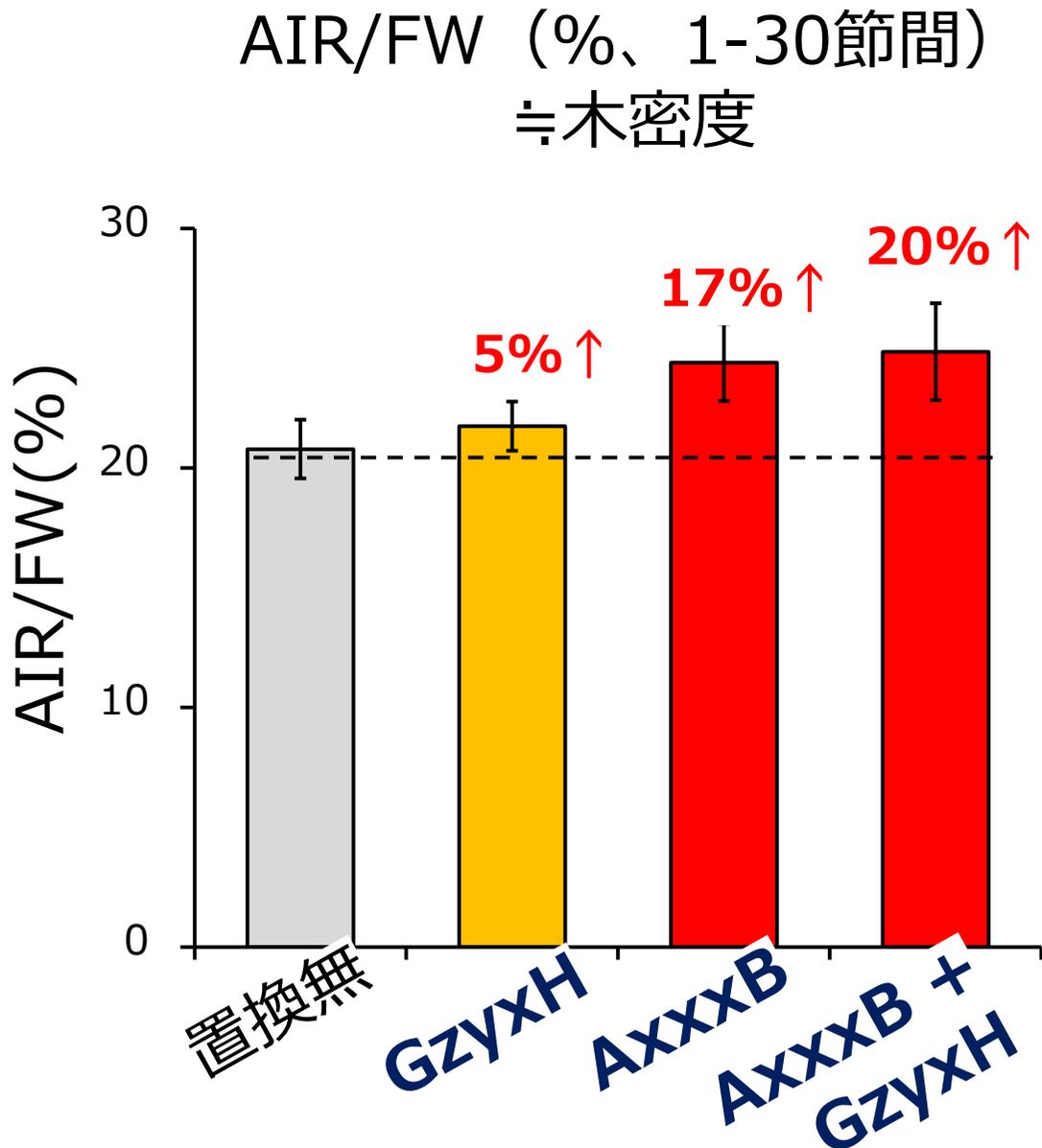
ピンク色：UV照射下でのリグニン自家蛍光を疑似カラーで表示

➤ 有望変異が木質増強効果を有することをポプラでも確認

研究開発内容①

進捗：NST高活性化変異を活用した高強度樹木の開発

◆ 有望変異を持つNST転写因子遺伝子を導入したポプラの木質量



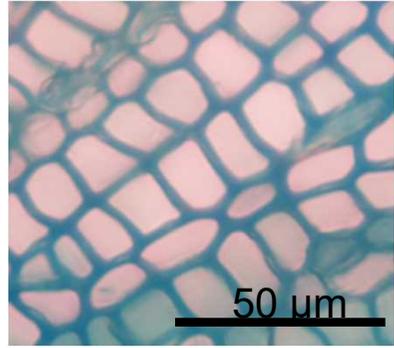
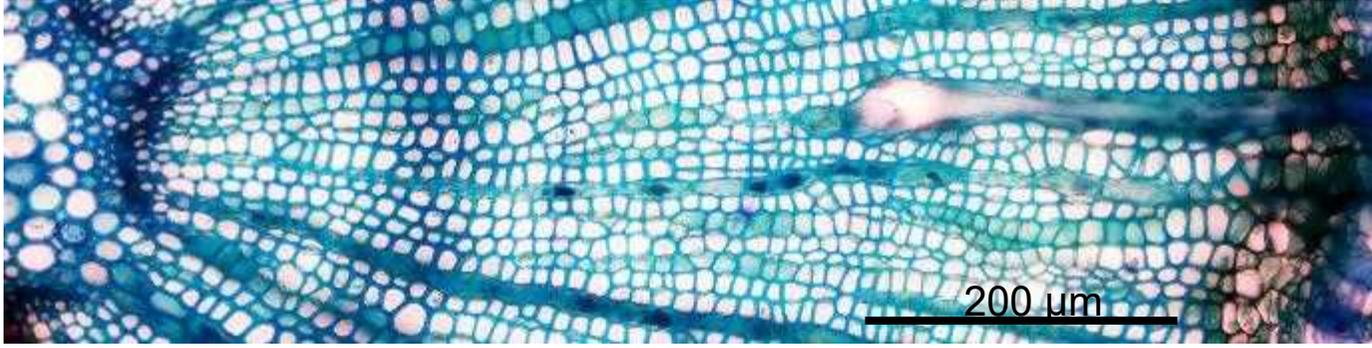
➤ 有望変異が木質増強効果を有することをポプラでも確認

研究開発内容①

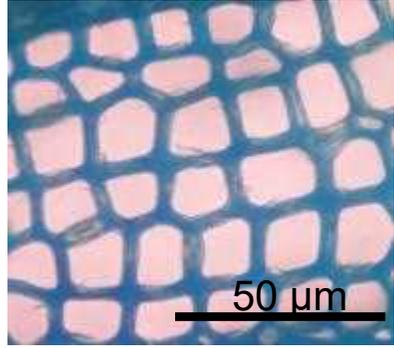
進捗：NST高活性化変異を活用した高強度樹木の開発

◆ 有望変異を持つNST転写因子遺伝子を導入したカラマツの切片観察

LkNAC1導入
(置換なし)



高活性化型
LkNAC1導入
(AxxxB)

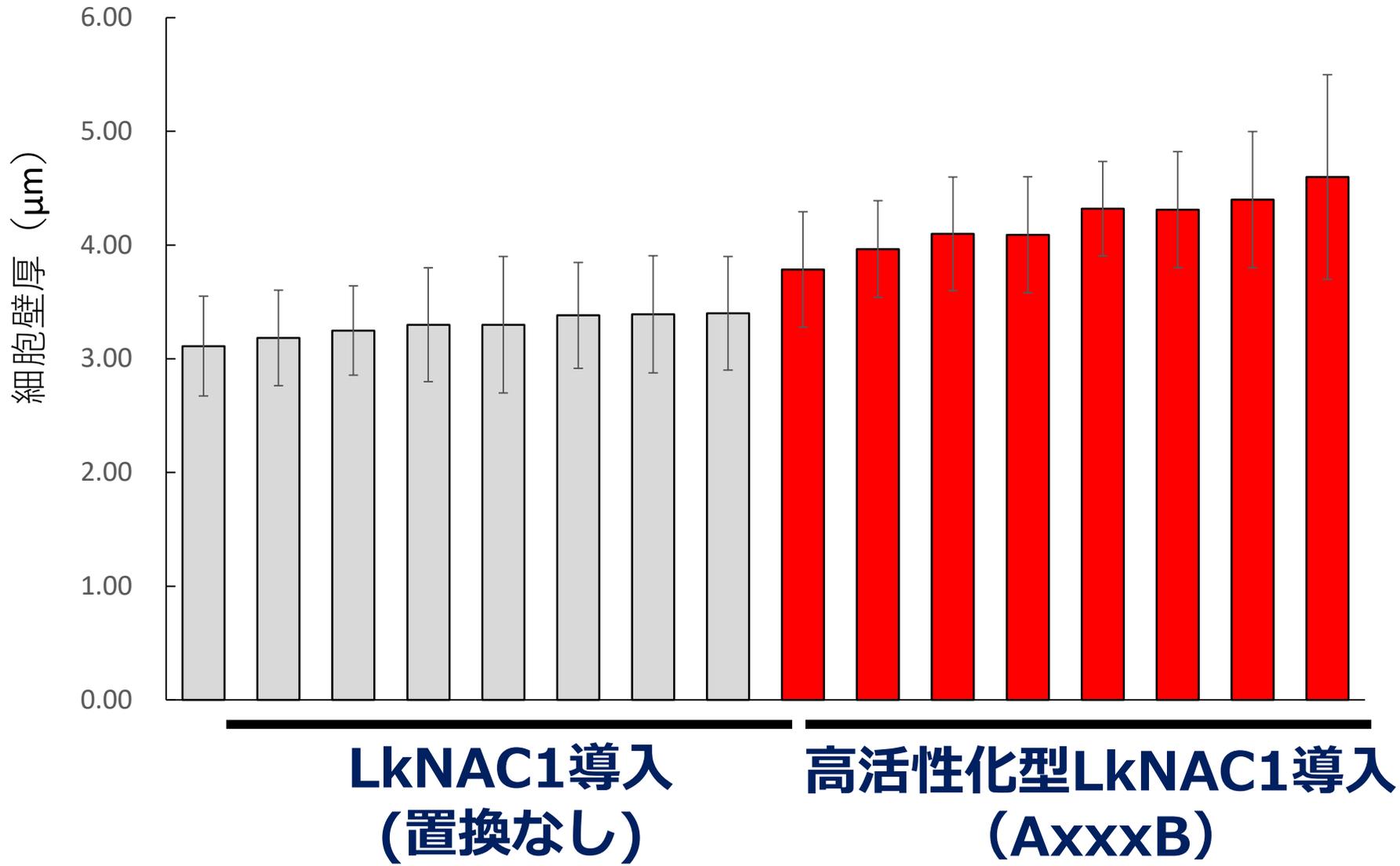


➤ 有望変異が木質増強効果を有することをカラマツでも確認

研究開発内容①

進捗：NST高活性化変異を活用した高強度樹木の開発

◆ 有望変異を持つNST転写因子遺伝子を導入したカラマツ細胞壁厚



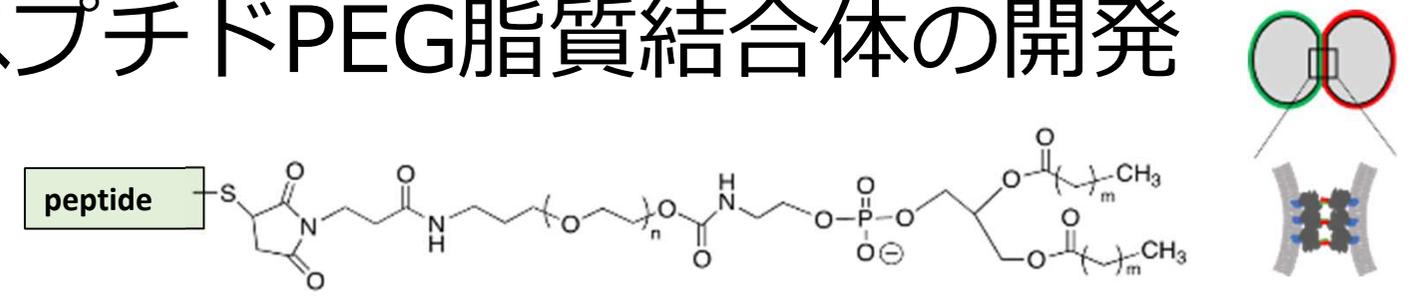
➤ 有望変異が木質増強効果を有することをカラマツでも確認
特許出願完了 (特願2023-196253)

本プロジェクトの三大コア技術

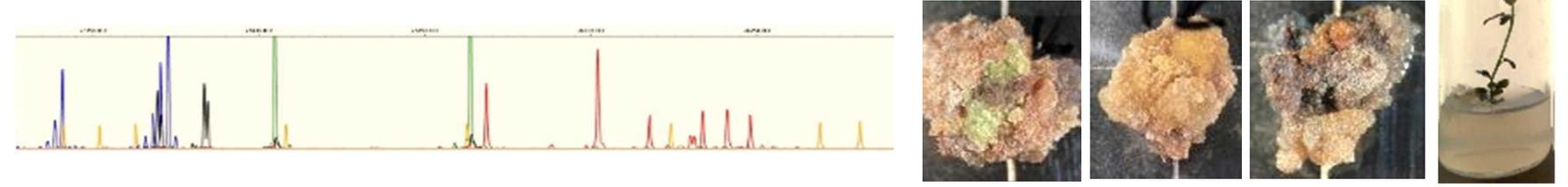
- 遺伝子最適化
- 超遠縁ハイブリッド作成
- 微生物共生最適化

超遠縁ハイブリッド作成技術による新植物の創生

1. 細胞融合促進ペプチドPEG脂質結合体の開発



2. 栽培適地を拡大した新ハイブリッドユーカリの開発



3. 新たなハイブリッドイネ、コムギの創生

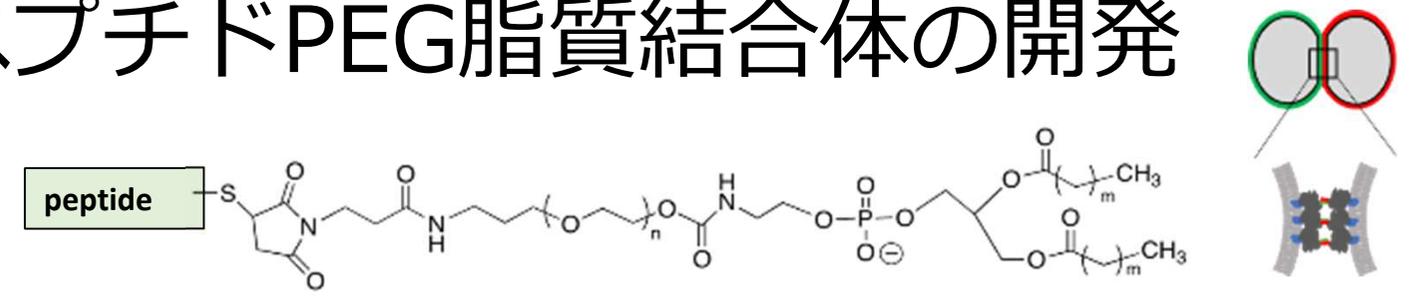


4. 新ハイブリッドバイオマス植物の開発

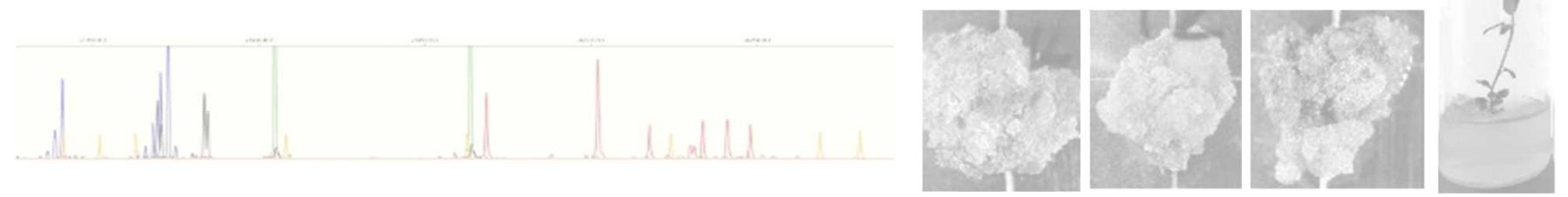


超遠縁ハイブリッド作成技術による新植物の創生

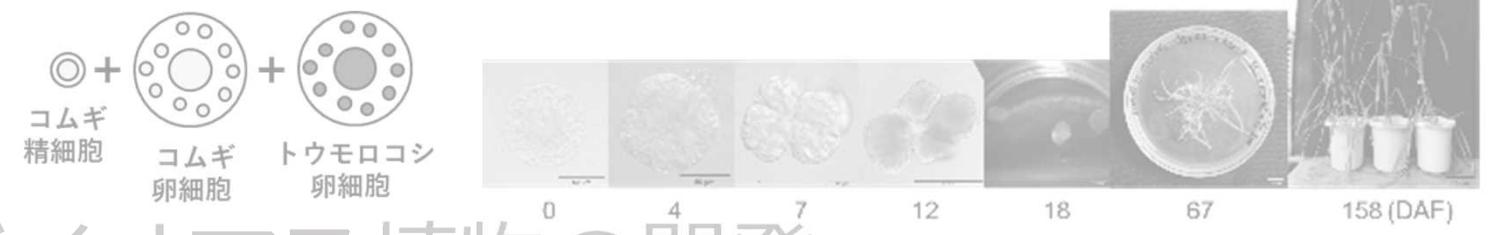
1. 細胞融合促進ペプチドPEG脂質結合体の開発



2. 栽培適地を拡大した新ハイブリッドユーカリの開発



3. 新たなハイブリッドイネ、コムギの創生

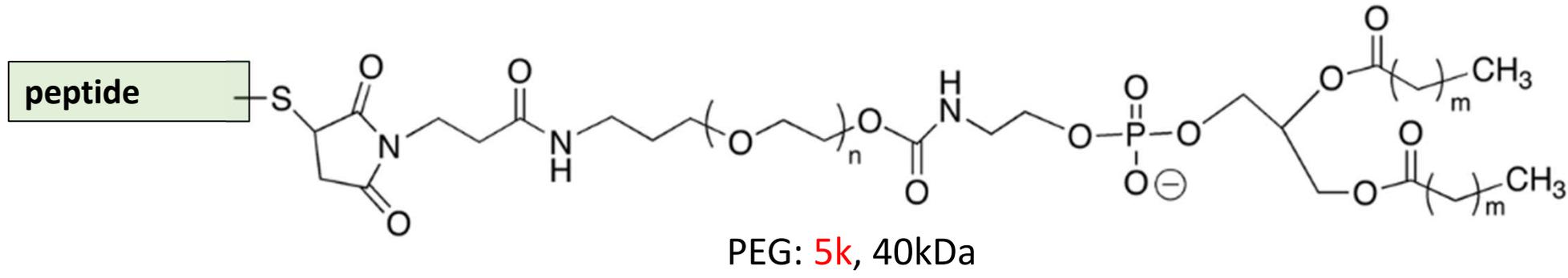


4. 新ハイブリッドバイオマス植物の開発



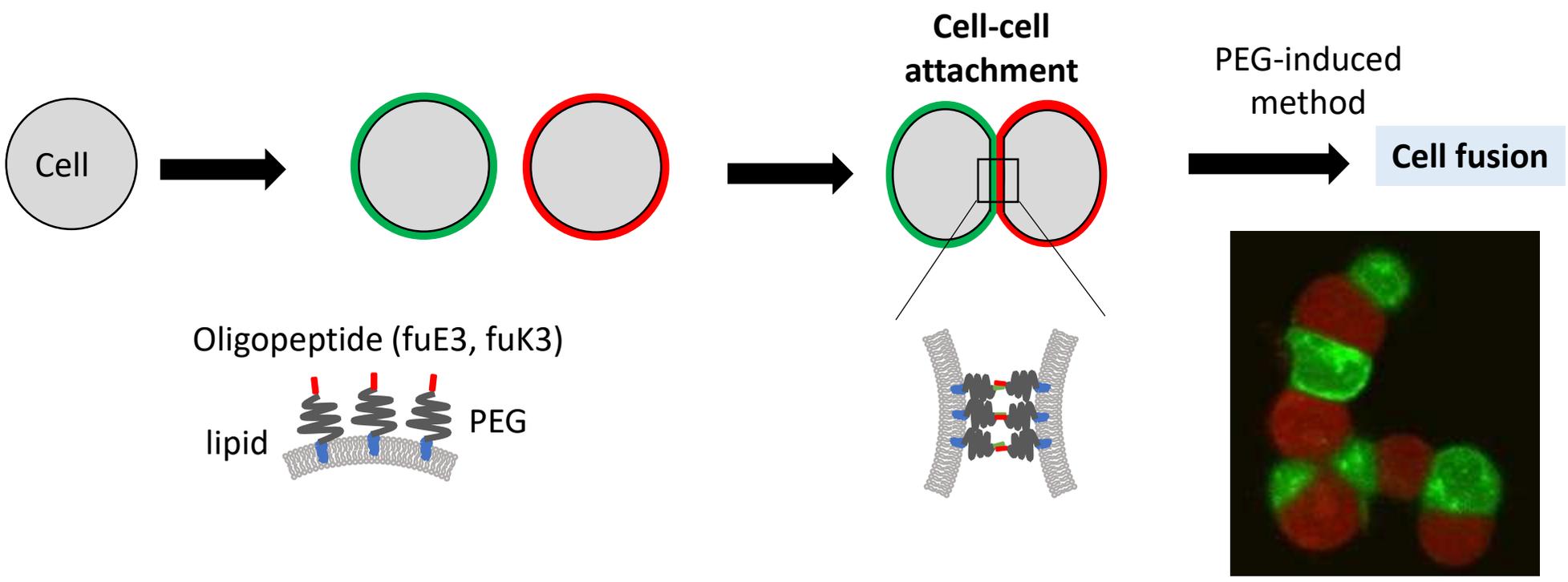
研究開発内容④⑨

計画：ペプチドPEG脂質結合体を用いた異種細胞融合 高効率化技術の開発



Peptide:
 EIAALEKEIAALEKEIAALEKGGGC (fuE3)
 KIAALKEKIAALKEKIAALKEGGGC (fuK3)

} 両者は引き合う性質

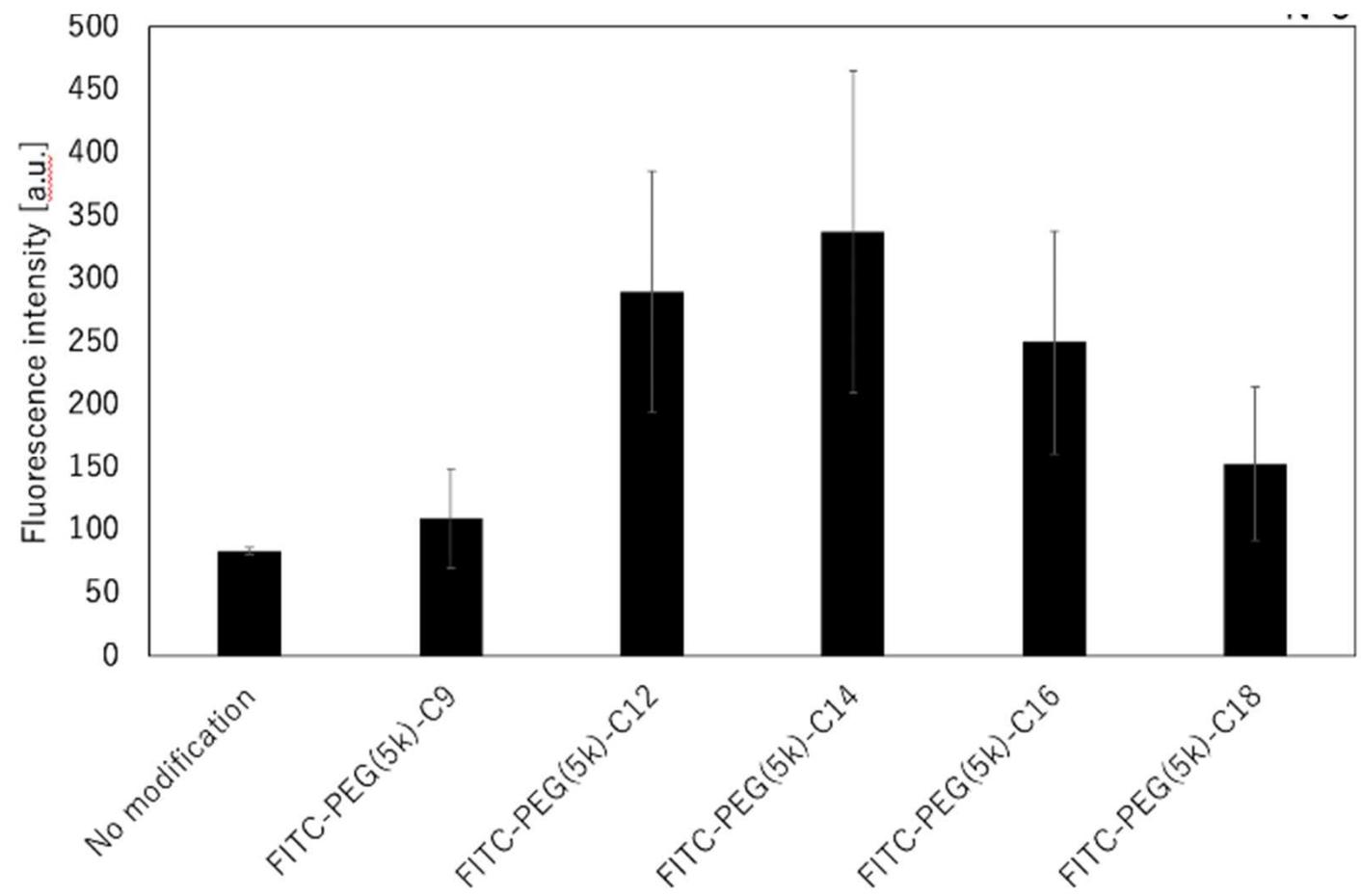
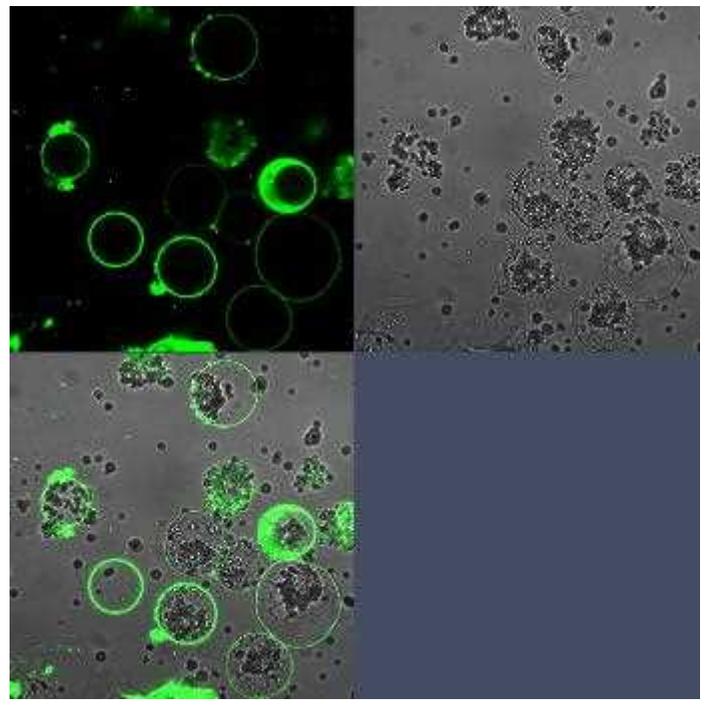


研究開発内容④⑨

進捗：ペプチドPEG脂質結合体を用いた異種細胞融合 高効率化技術の開発

◆ イネO_c細胞において炭素鎖の長さを検討した結果

イネO_c 細胞, FITC-5k-C14

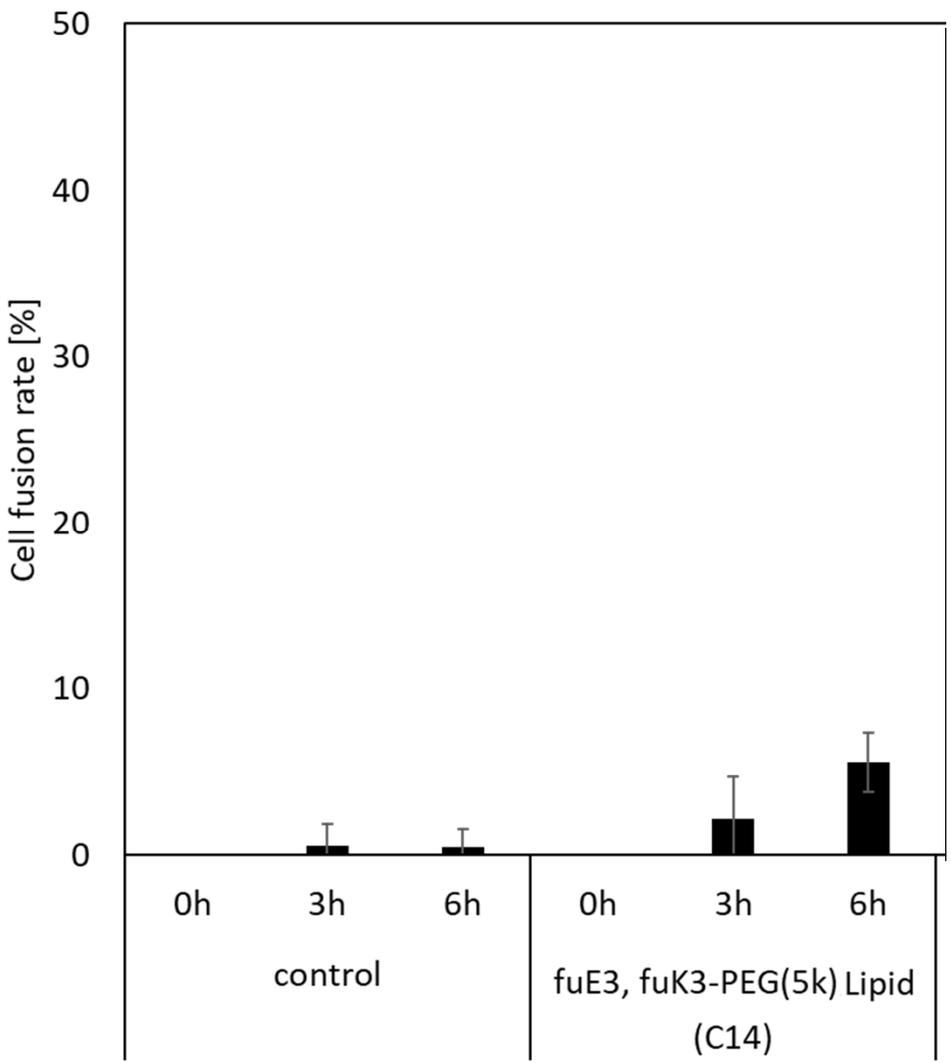


➤ 植物細胞に最適な構造を決定

研究開発内容④⑨

進捗：ペプチドPEG脂質結合体を用いた異種細胞融合 高効率化技術の開発

◆ イネプロトプラストでの効果検証

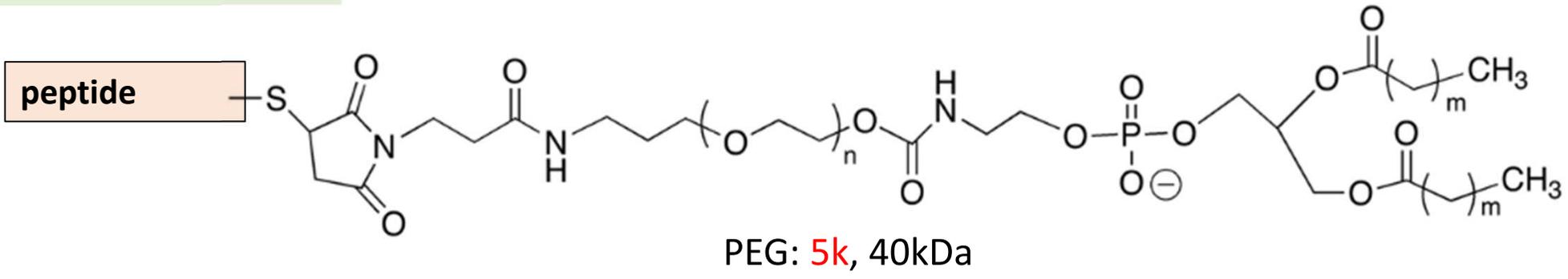


➤ 融合効率の改善が見られたものの効果は限定的

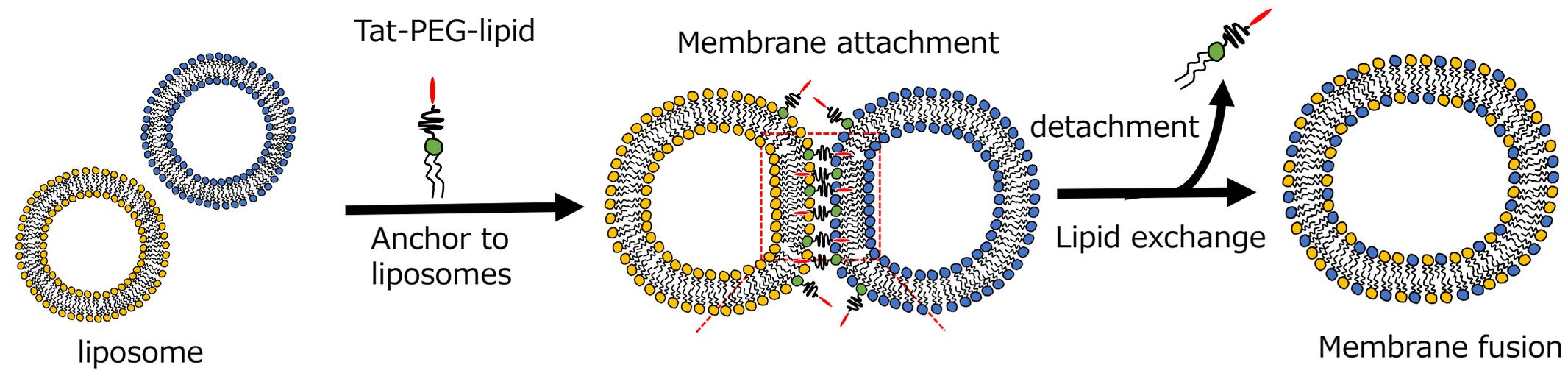
研究開発内容④⑨

進捗：ペプチドPEG脂質結合体を用いた異種細胞融合 高効率化技術の開発

◆ 新素材の検討



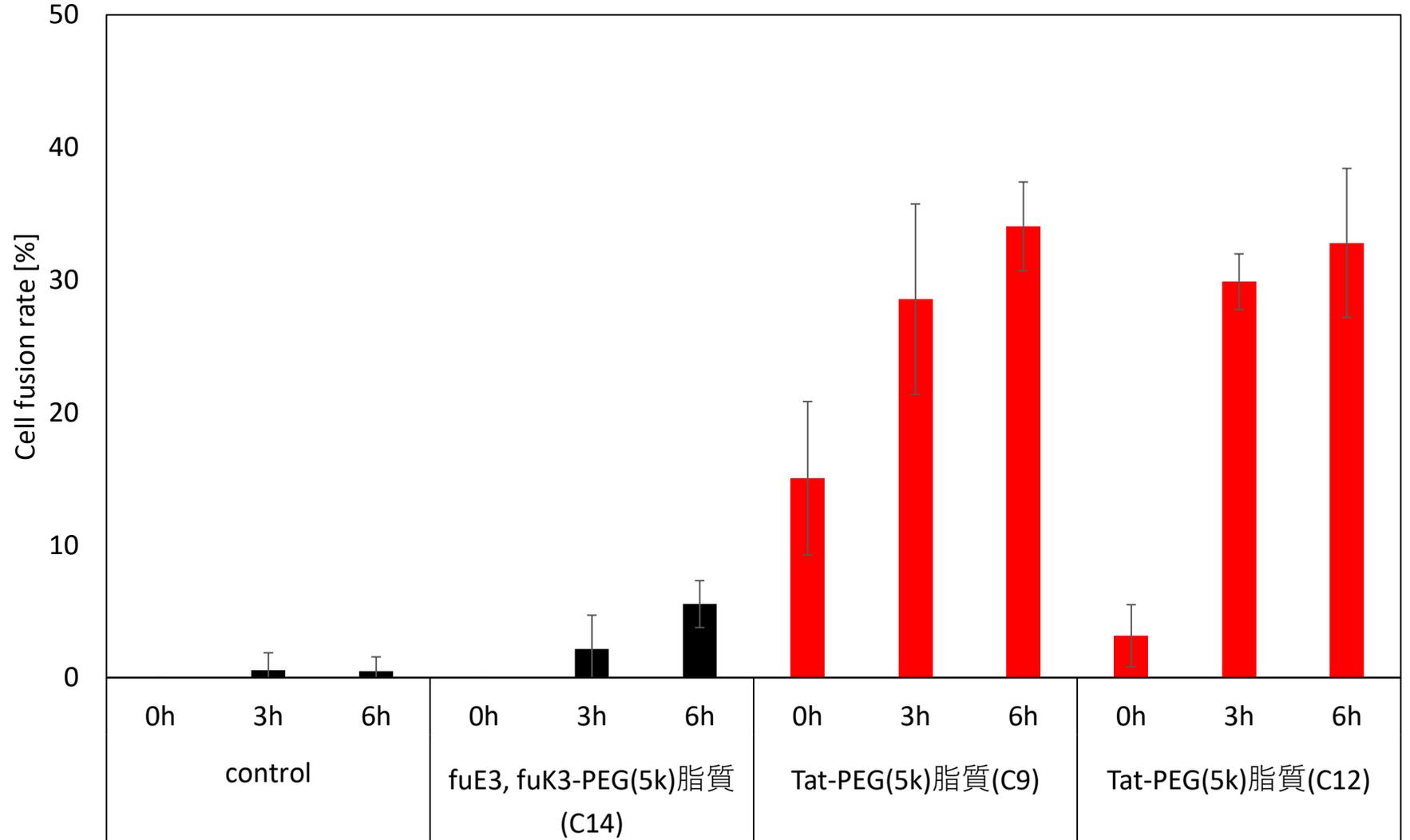
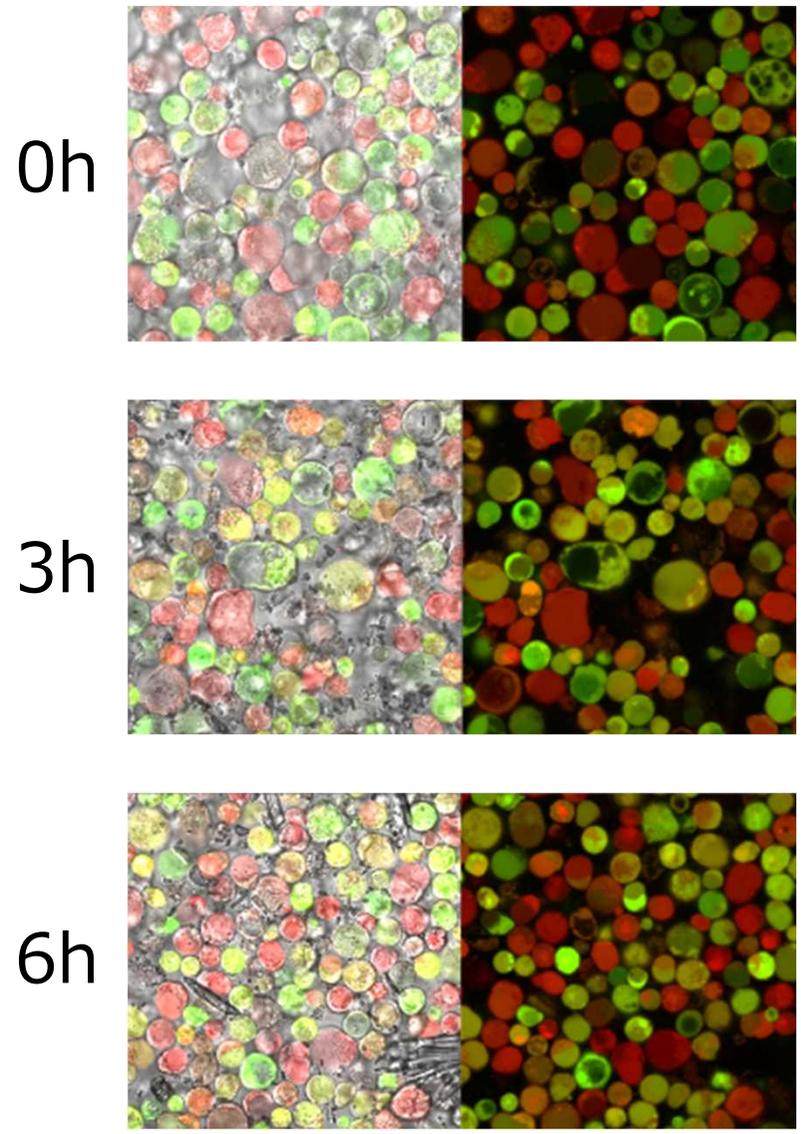
Peptide:
 YGRKKRRQRRR (Tat: Trans-Activator of Transcription Protein)...膜透過性のあるペプチド。ただし選択性はなくなる。



研究開発内容④⑨

進捗：ペプチドPEG脂質結合体を用いた異種細胞融合 高効率化技術の開発

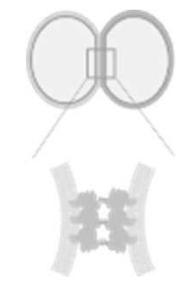
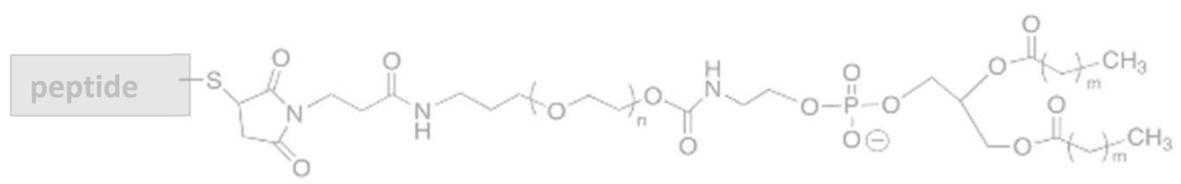
◆ 新素材の検討（イネプロトプラスト）



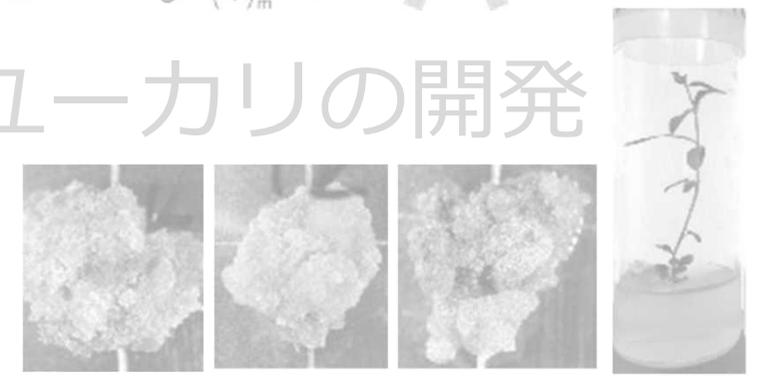
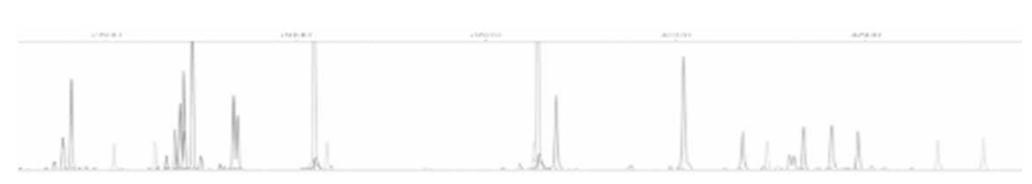
➤ 新素材を使用することで選択性はなくなるが大幅な改善を示した → 特許出願完了（特願2023-192501）

超遠縁ハイブリッド作成技術による新植物の創生

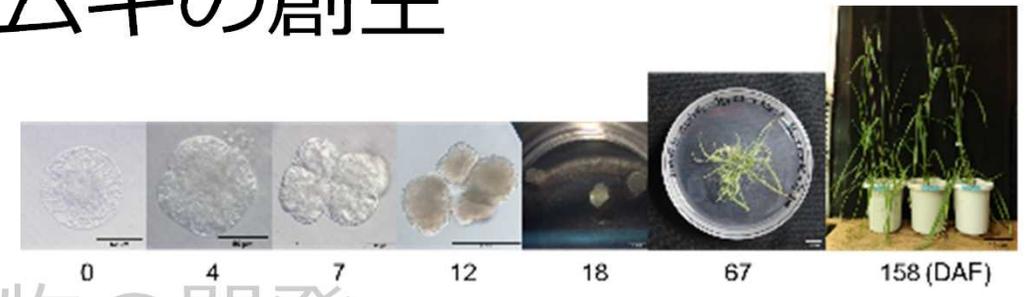
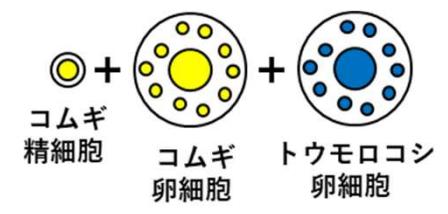
1. 細胞融合促進ペプチドPEG脂質結合体の開発



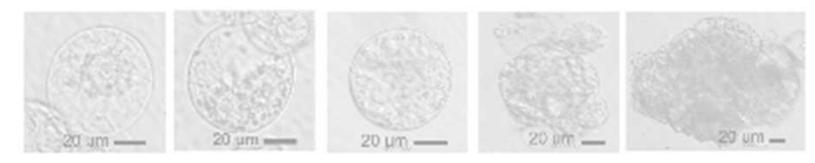
2. 栽培適地を拡大した新ハイブリッドユーカリの開発



3. 新たなハイブリッドイネ、コムギの創生



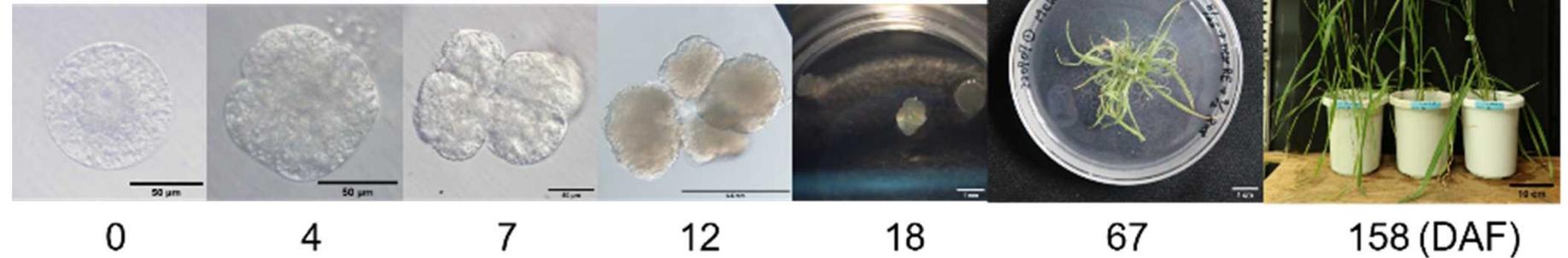
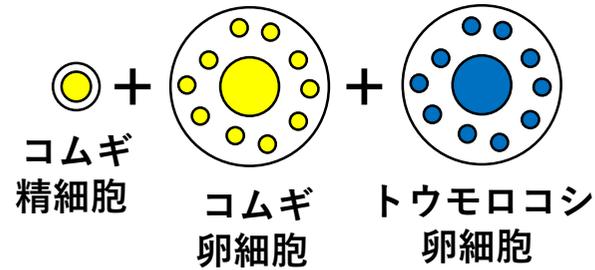
4. 新ハイブリッドバイオマス植物の開発



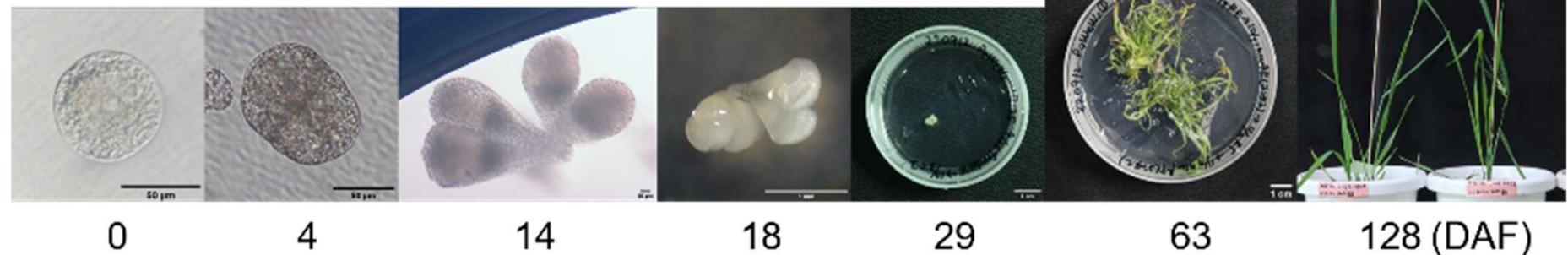
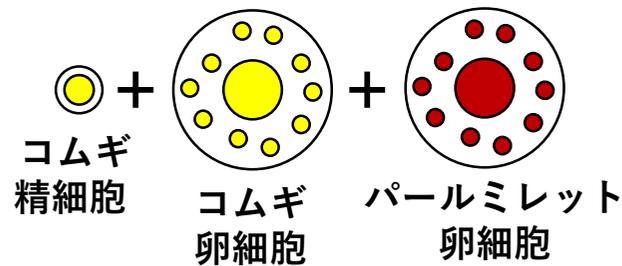
研究開発内容⑧

進捗：新たなイネ・コムギの創生に向けた要素技術の確立とその可能性の検証

◆コムギ × トウモロコシ交雑植物の作出に成功



◆コムギ × パールミレット交雑植物の作出に成功



➤ 基本的な要素技術は確立できた

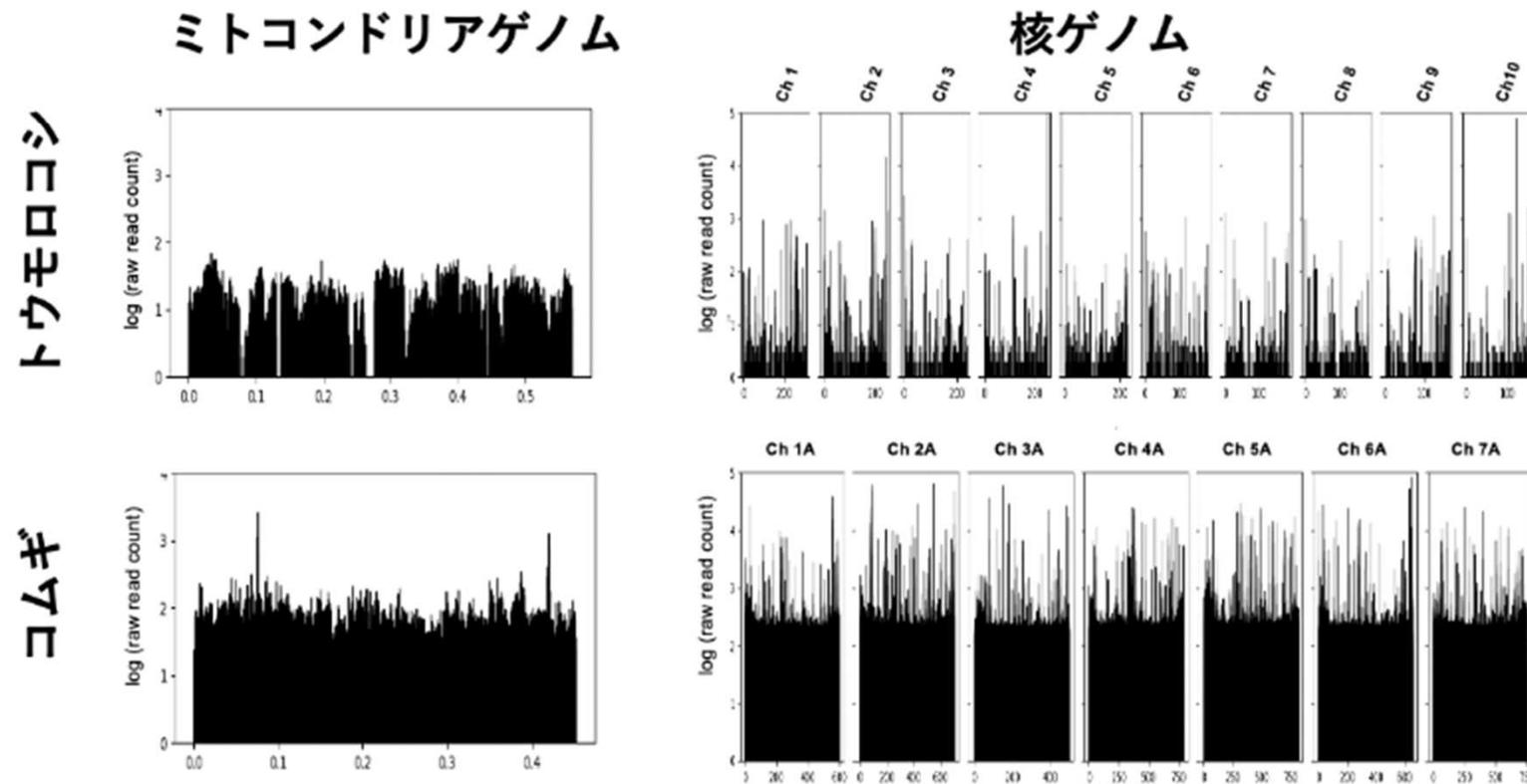
研究開発内容⑧

進捗：新たなイネ・コムギの創生に向けた要素技術の確立とその可能性の検証

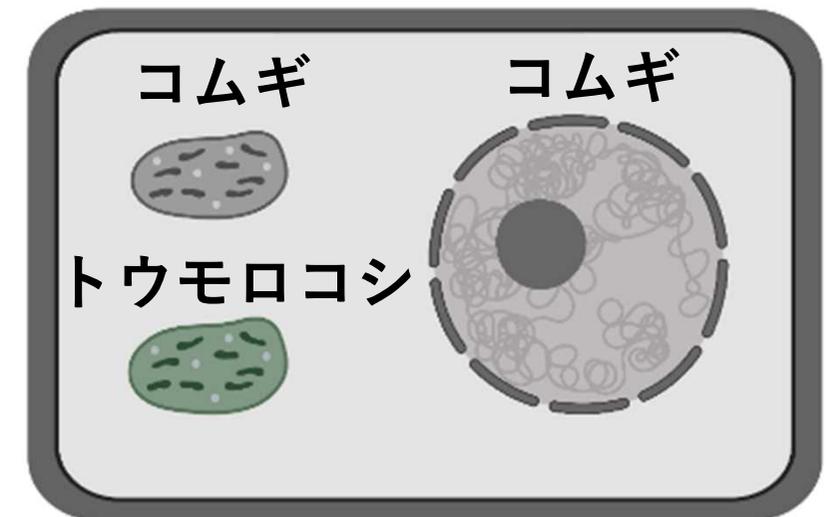
◆コムギ × トウモロコシ交雑植物のゲノムを解読

- ・核ゲノム：ほぼコムギ
- ・ミトコンドリアゲノム：トウモロコシ + コムギ

トウモロコシコムギ (MWW3D) ゲノムシーケンスリードのマッピングプロファイル



トウモロコシコムギ

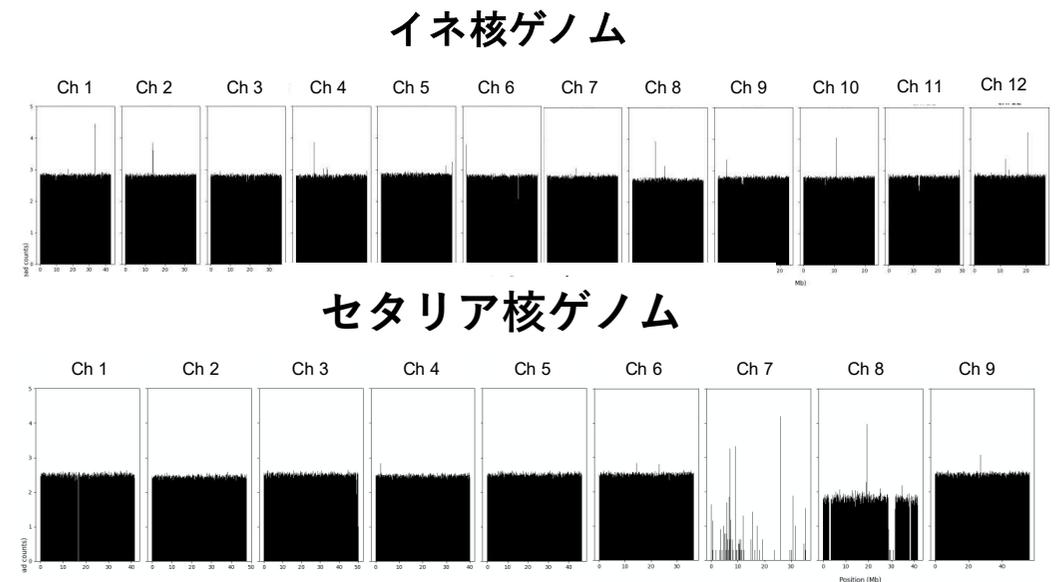
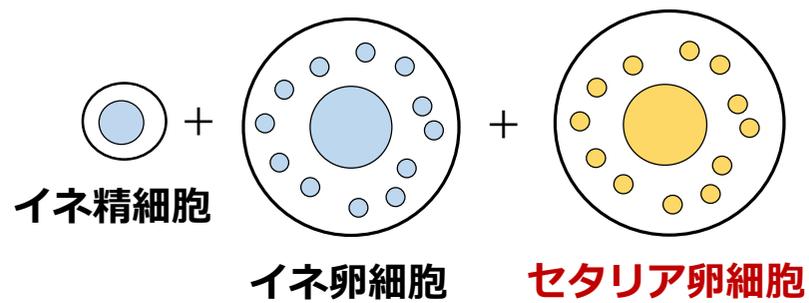


➤ 狙い通りのサイブリッドが
できていることを確認

研究開発内容⑧

進捗：新たなイネ・コムギの創生に向けた要素技術の確立とその可能性の検証

◆イネ × セタリア交雑受精卵由来カルス及びそのゲノム組成



➤ 融合カルスまでを作成する要素技術は確立できた

研究開発内容⑧

進捗：新たなイネ・コムギの創生に向けた要素技術の確立とその可能性の検証

《今後の方針》

■ 交雑植物における核、細胞質ゲノム存在様態の解析

□ ゲノム解読

- ・ トウモロコシ × コムギ：6ラインについて実施済
- ・ パールミレット × コムギ：11ラインについて実施中
raw data 取得済

□ FISH解析

■ 農業形質、生理的形質の調査

□ トウモロコシ-コムギ種子の増殖済

□ 光合成能力、様態の解析

光合成速度・炭素安定同位体比の測定

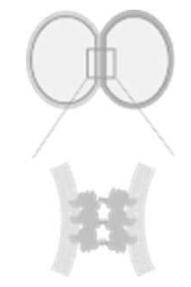
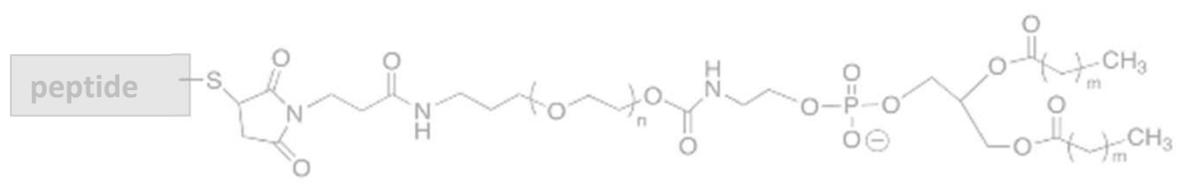
□ 細胞壁形質の分析

■ イネ-C4植物カルスの再分化および交雑植物のゲノム組成決定

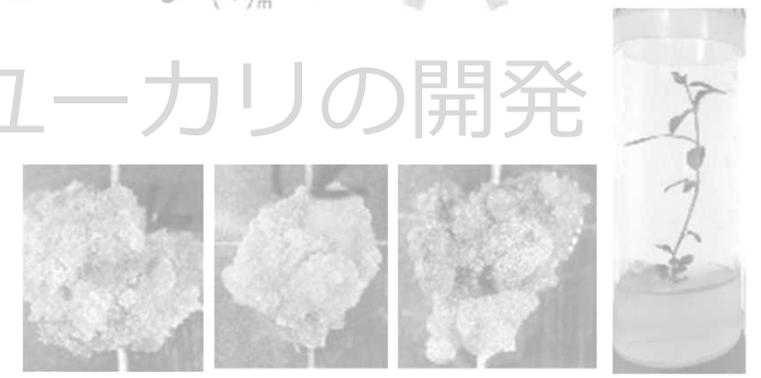
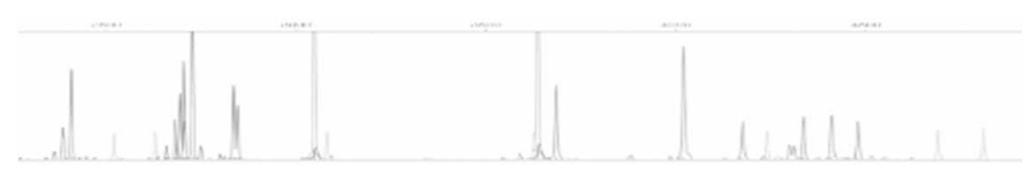


超遠縁ハイブリッド作成技術による新植物の創生

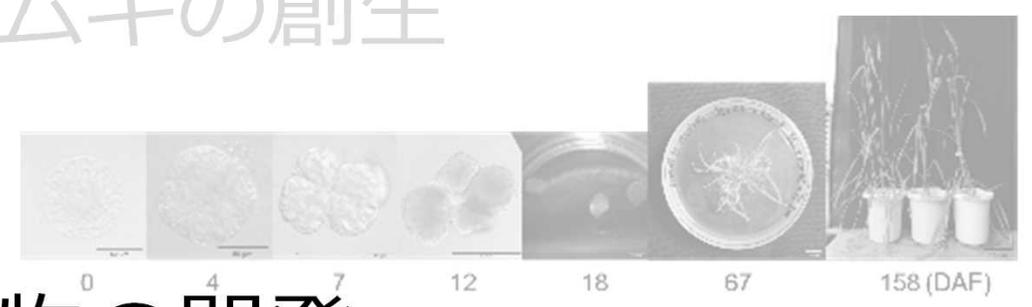
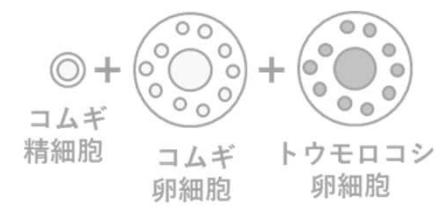
1. 細胞融合促進ペプチドPEG脂質結合体の開発



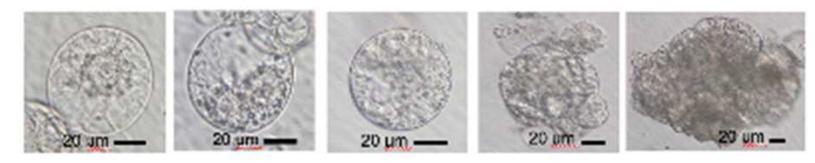
2. 栽培適地を拡大した新ハイブリッドユーカリの開発



3. 新たなハイブリッドイネ、コムギの創生



4. 新ハイブリッドバイオマス植物の開発



研究開発内容⑩

進捗：新バイオマス植物の創生に向けた要素技術の確立とその可能性の検証

◆交配によるエリアンサス × ススキ作出

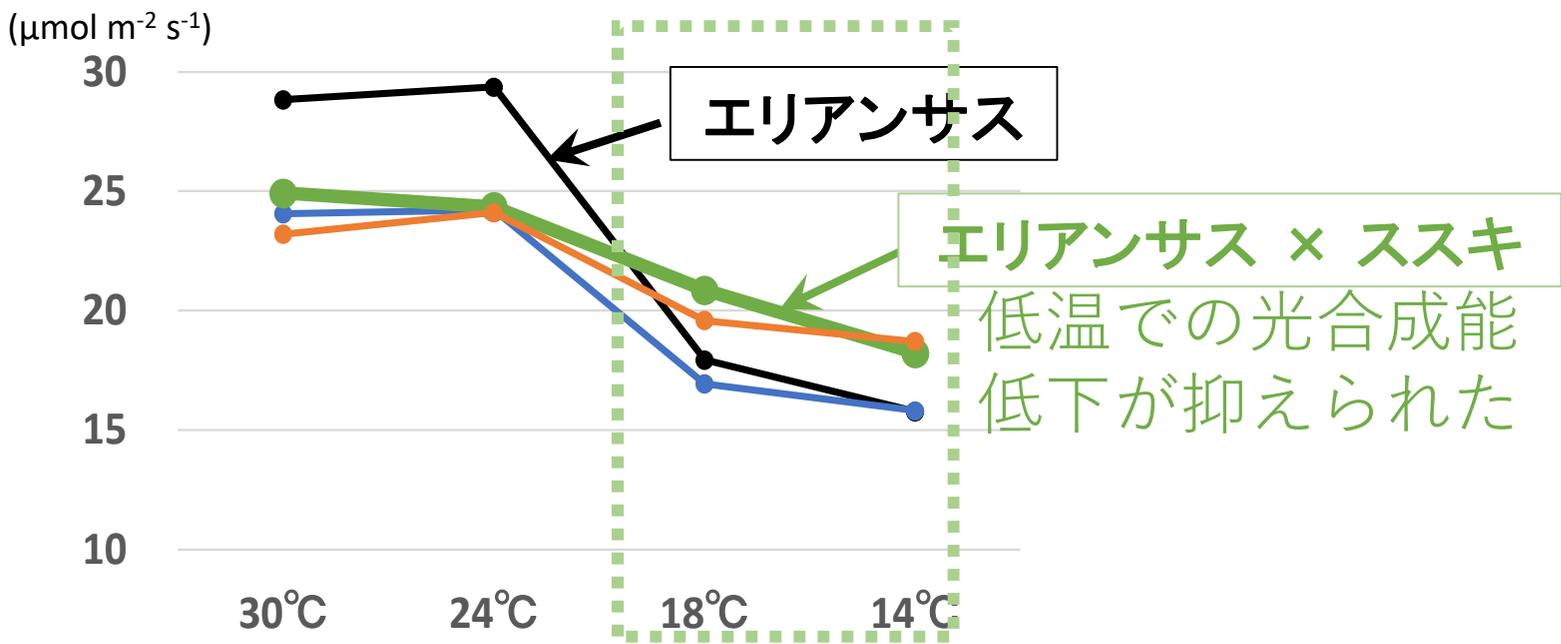
エリアンサス(♀) × 関東以北ススキ(♂)



◆北関東における生育・越冬性



◆様々な温域での光合成活性

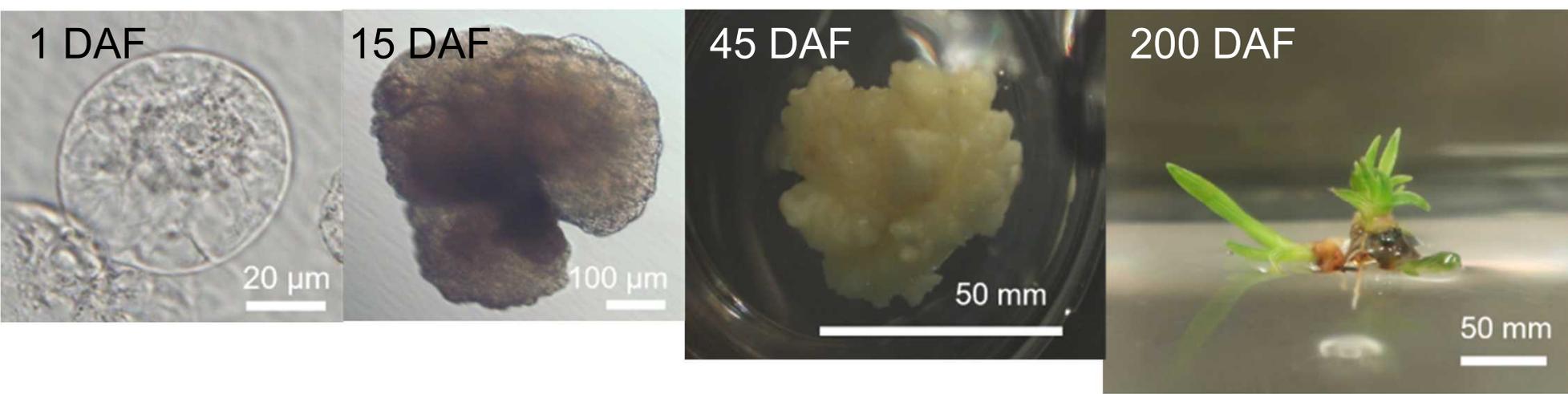


➤ 新バイオマス植物（エリアンサス × ススキ）は耐寒性が強化されることを確認

研究開発内容⑩

進捗：新バイオマス植物の創生に向けた要素技術の確立とその可能性の検証

◆顕微授精法によるエリアンサス × サトウキビの作出に成功



◆エリアンサス × サトウキビが双方のゲノムを持つことを確認

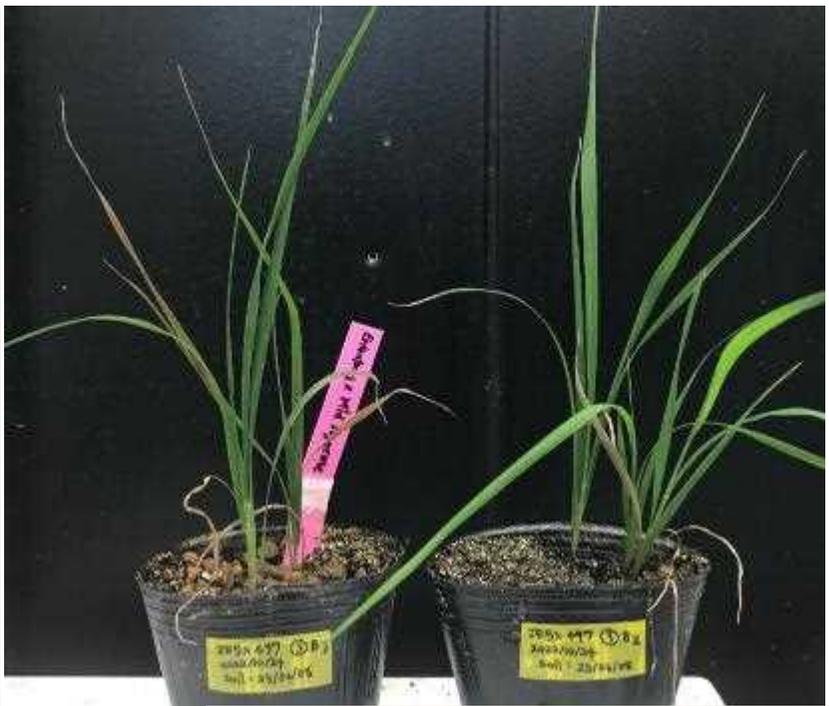
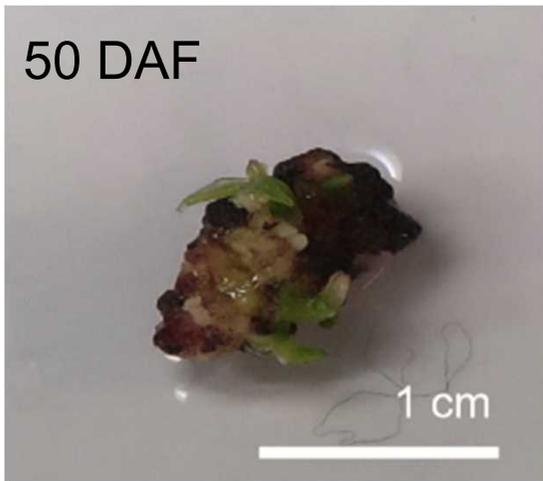
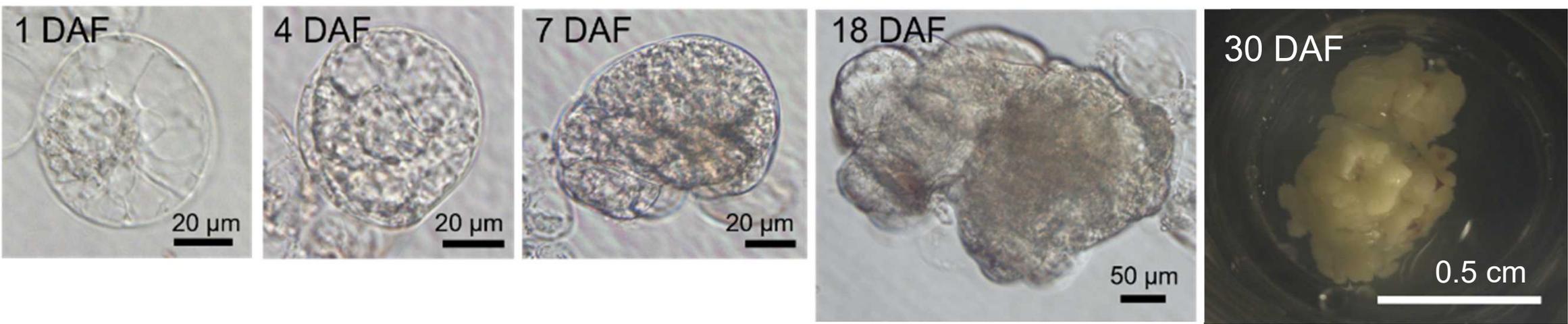


➤ 基本的な要素技術は確立できた

研究開発内容⑩

進捗：新バイオマス植物の創生に向けた要素技術の確立とその可能性の検証

◆顕微授精法によるエリアンサス × サトウキビ × ススキの三重交雑体候補の作出に成功



➤ 基本的な要素技術は確立できた

研究開発内容⑩

進捗：新バイオマス植物の創生に向けた要素技術の確立とその可能性の検証

《今後の方針》

■ 耐寒性、バイオマス生産能、光合成能力などの形質評価の実施

- エリアンサス × ススキ属間雑種について石垣島（国際農研）、鳥取（鳥取大）、秋田（秋田県立大）にて耐寒性、バイオマス形質などを評価する栽培試験を実施



国際農研



鳥取大



秋田県立大

- エリアンサス-サトウキビ雑種およびエリアンサス × サトウキビ × ススキ三重交雑体の形質評価に向けた株増殖および基本的生育特性評価

本プロジェクトの三大コア技術

- 遺伝子最適化
- 超遠縁ハイブリッド作成
- 微生物共生最適化

進捗：新バイオマス植物に対して生育促進効果を有する共生微生物の探索・特定

* p<0.01

◆イネでの生育促進効果（栄養成長期）

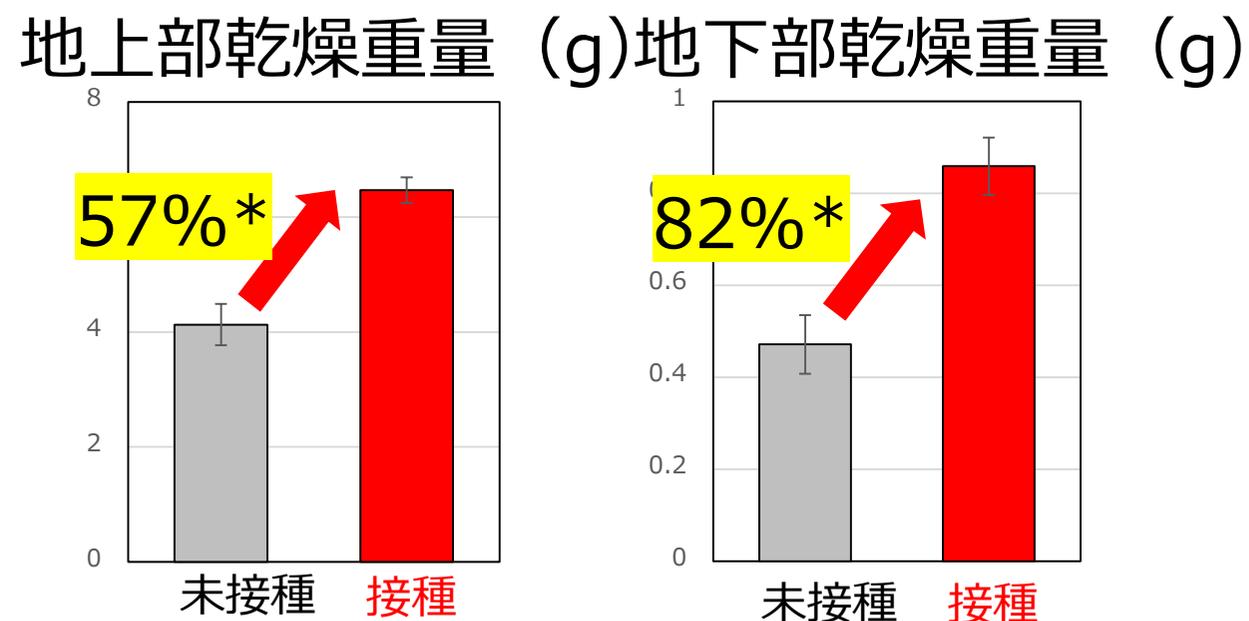
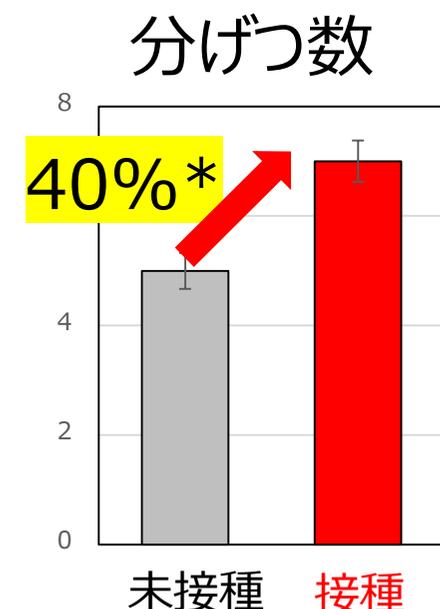
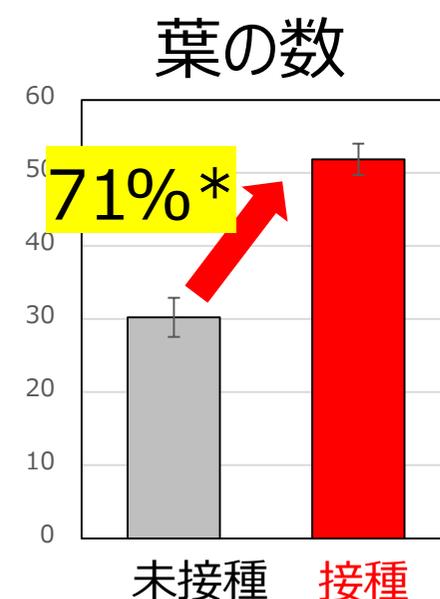
約2カ月栽培（N=8）



未接種



接種

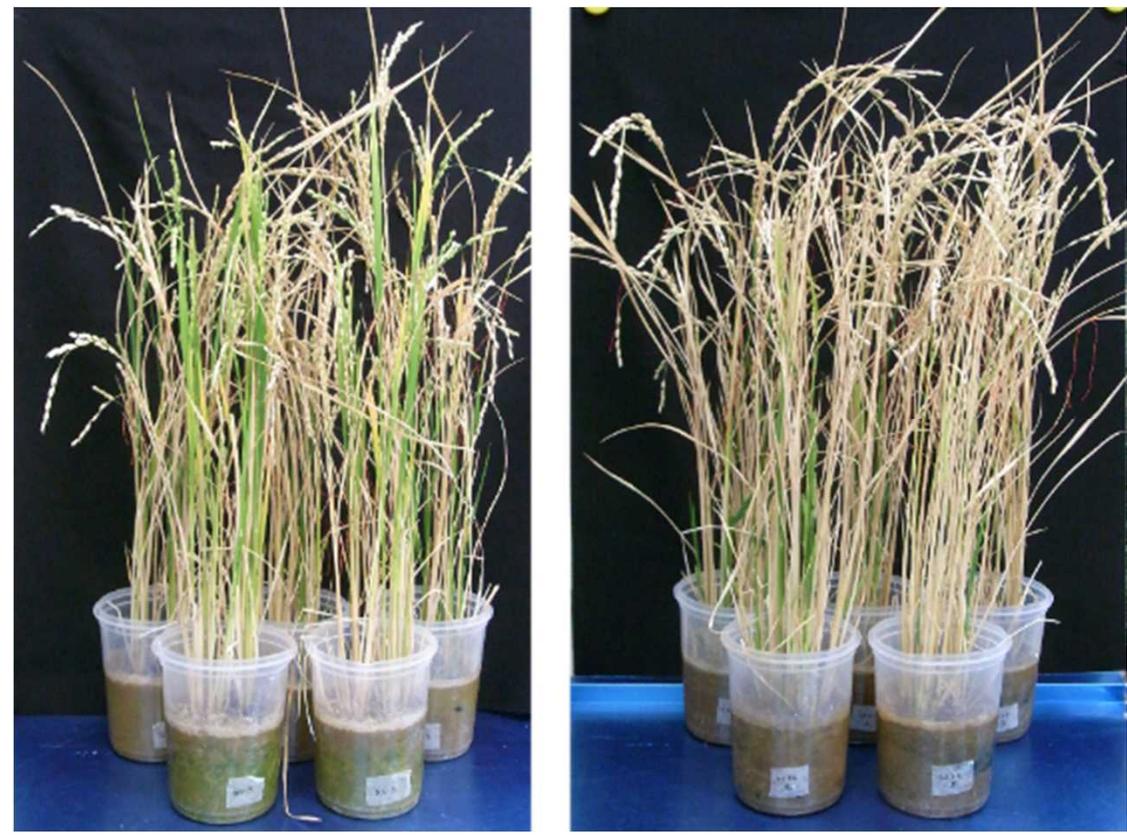


➤ イネでの明らかな生育促進効果を確認

進捗：新バイオマス植物に対して生育促進効果を有する共生微生物の探索・特定

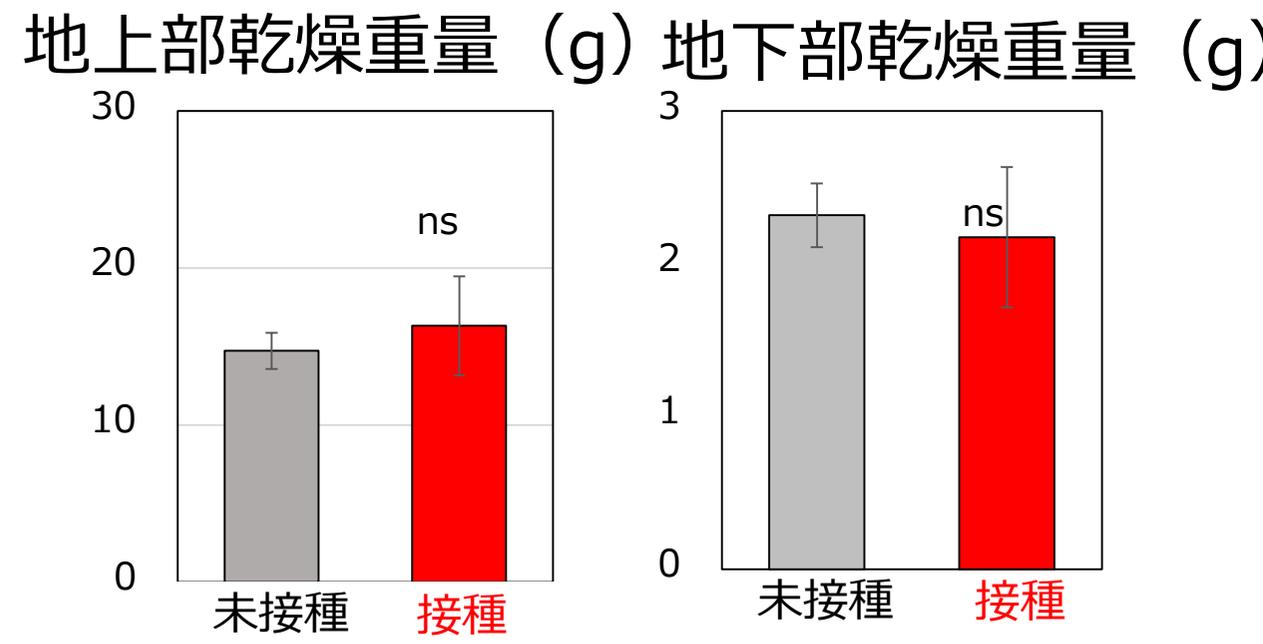
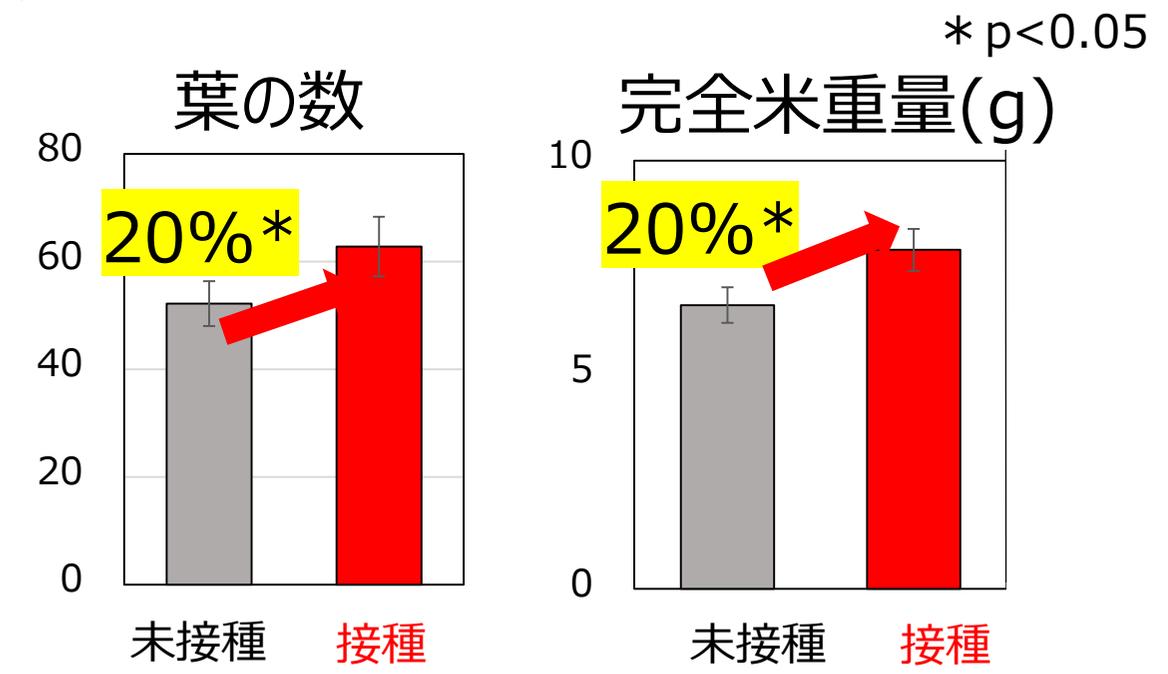
◆イネでの生育促進効果（収穫期）

約5カ月栽培（N=5 [10個体]）



未接種

接種



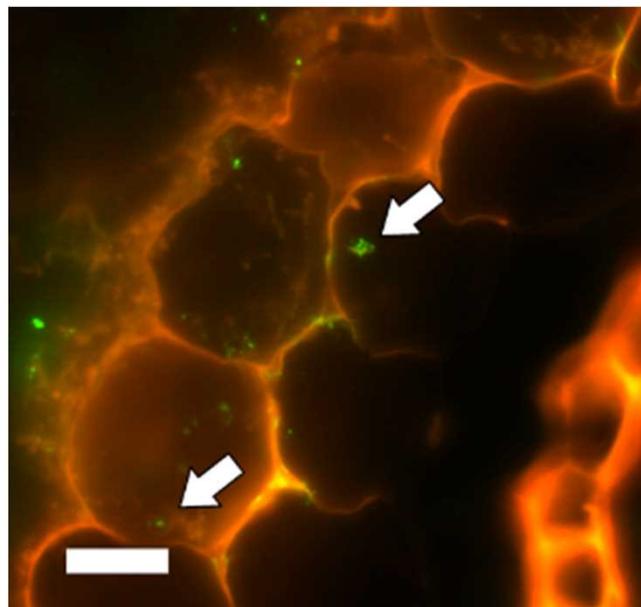
➤ コメの収量が増えることを確認

進捗：新バイオマス植物に対して生育促進効果を有する共生微生物の探索・特定

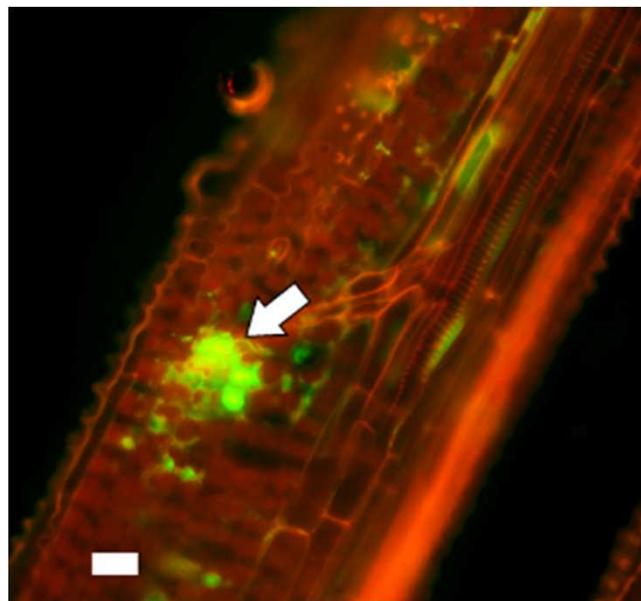
◆処理した菌の定着を検証

FISH解析

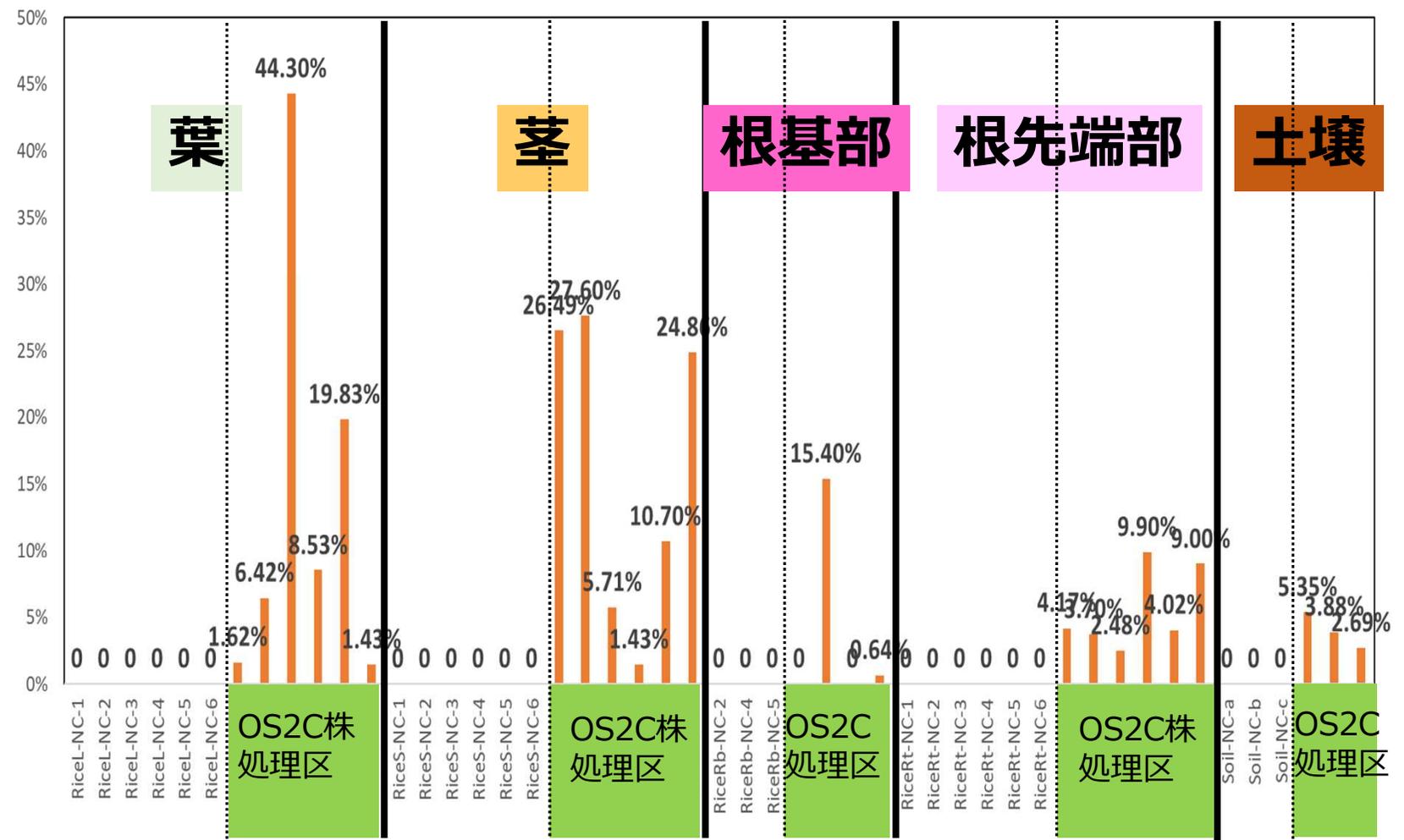
根



茎



各サンプル中のOS2C株(の16SrRNA遺伝子配列)の占有率



根は主に先端部に定着

➤ 約3カ月栽培の植物への処理した菌の定着を確認

進捗：新バイオマス植物に対して生育促進効果を有する共生微生物の探索・特定

◆エリアンサスでの生育促進効果

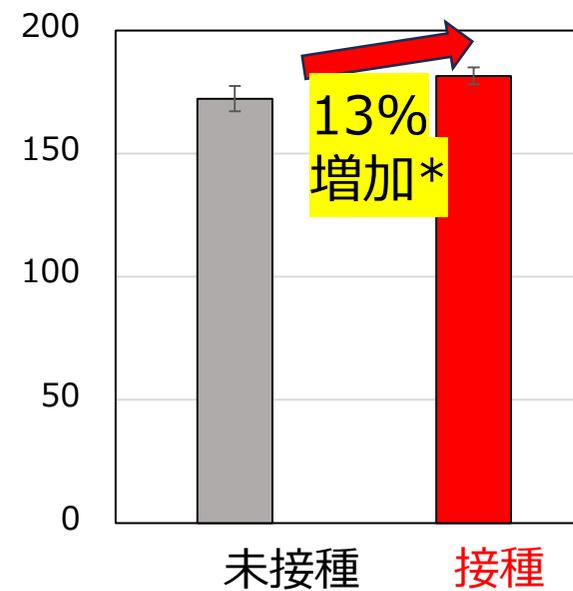
約4カ月栽培 (N=6)



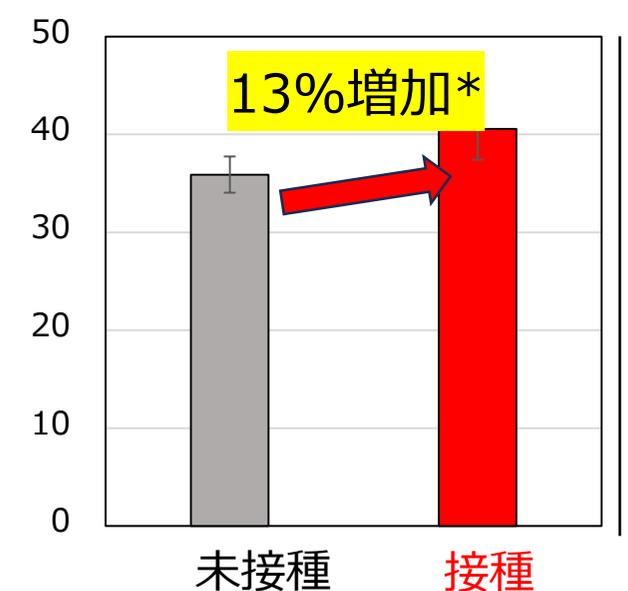
未接種

接種

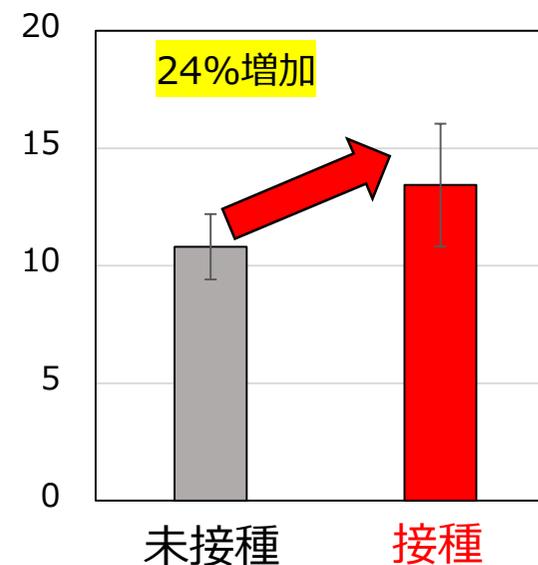
背丈 (cm)



地上部乾重量 (g) * p<0.05



地下部乾重量 (g)



➤ 実用的なバイオマス植物でも効果を確認

研究開発内容⑥

進捗：樹木に対して生育促進効果を有する共生微生物の探索と評価

◆OS2C株のポプラでの生育促進効果

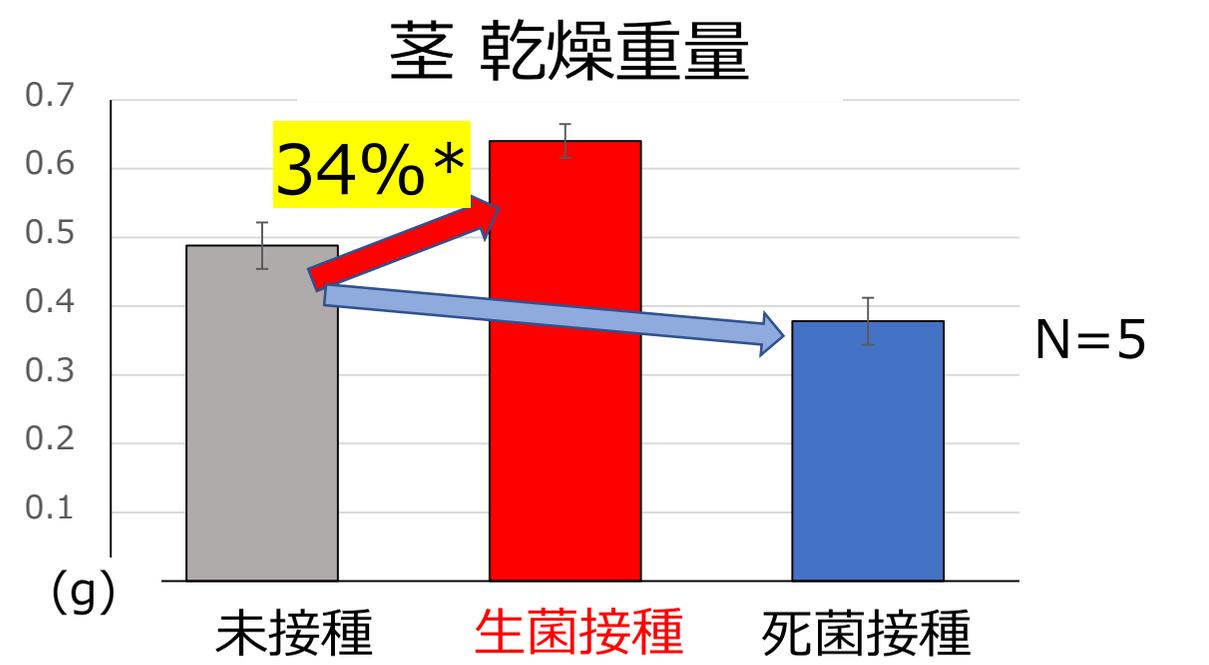
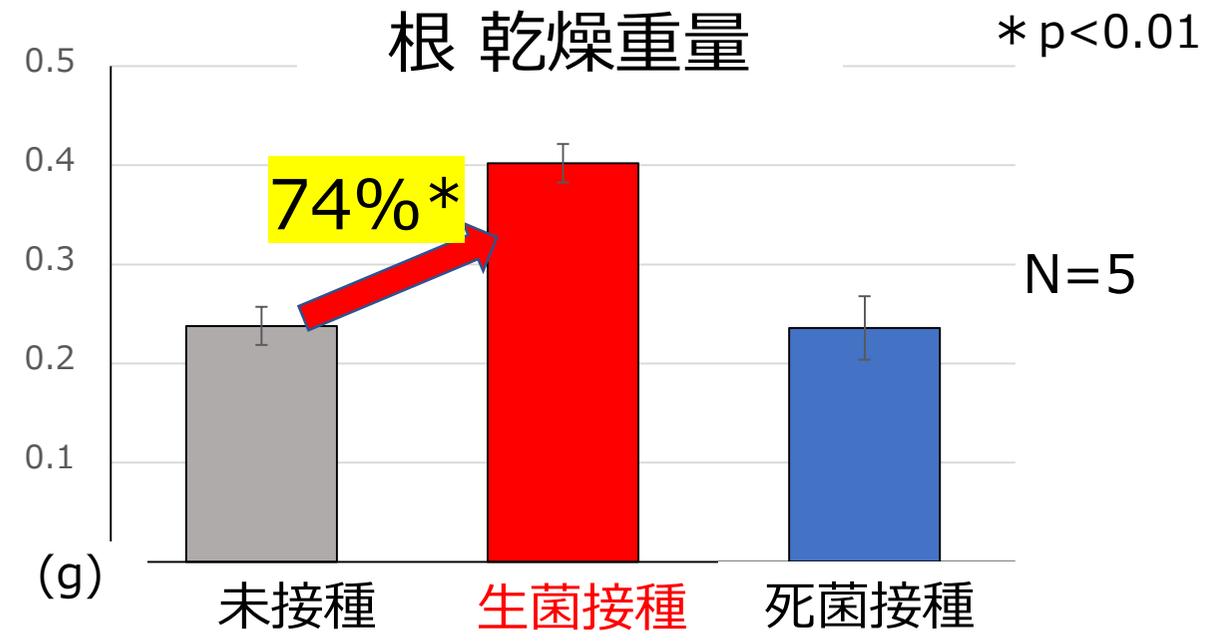
約3カ月栽培



未接種



接種

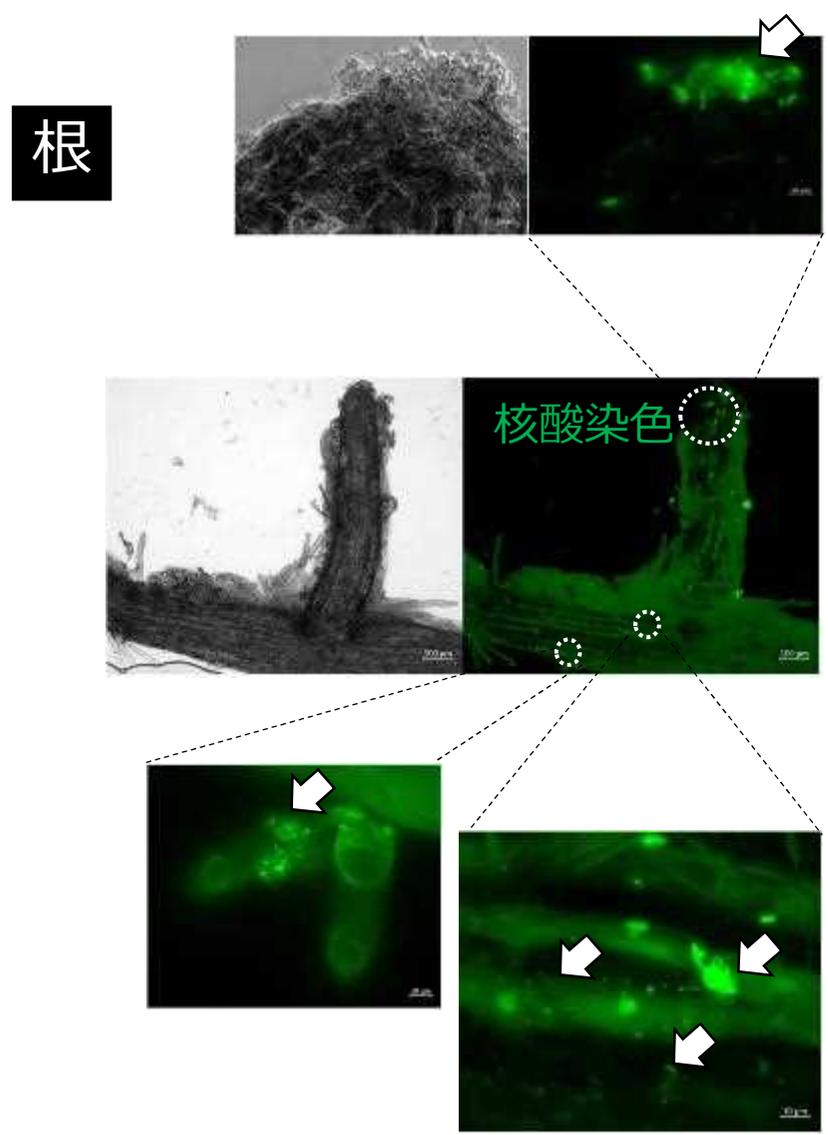


➤ 樹木でも明らかな生育促進効果を確認

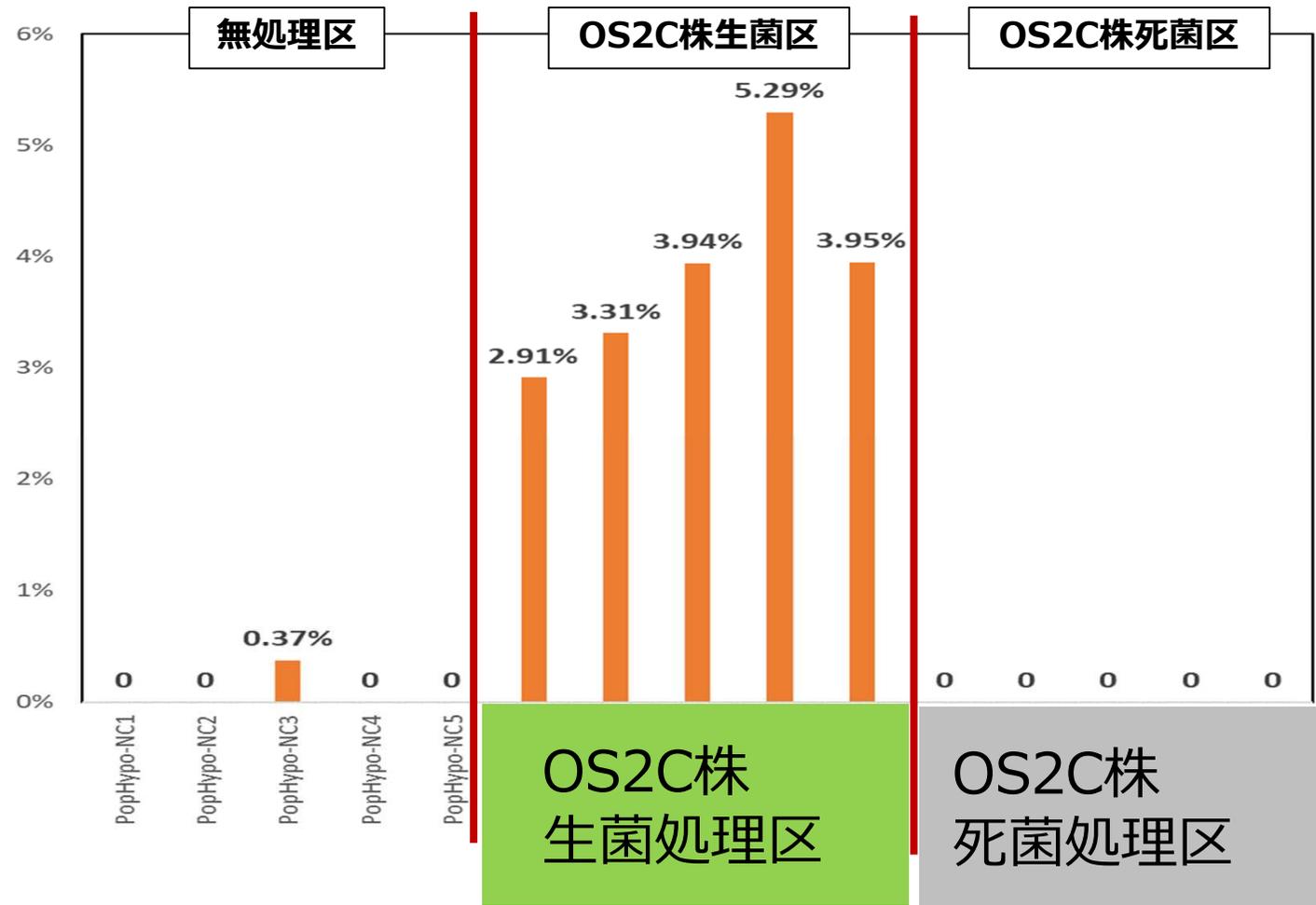
研究開発内容⑥

進捗：樹木に対して生育促進効果を有する共生微生物の探索と評価

◆OS2C株のポプラへの定着確認



各サンプル（茎）中のOS2C株(の16SrRNA遺伝子配列)の占有率



➤ 約3カ月栽培の樹木でも菌の定着を確認

研究開発内容⑥

進捗：樹木に対して生育促進効果を有する共生微生物の探索と評価

◆OS2C株のポプラでの休眠抑制効果

約5カ月栽培



- OS2C処理は休眠抑制効果（？）がある模様。今後詳しいメカニズムを研究する予定。

研究開発内容⑥

進捗：樹木に対して生育促進効果を有する共生微生物の探索と評価

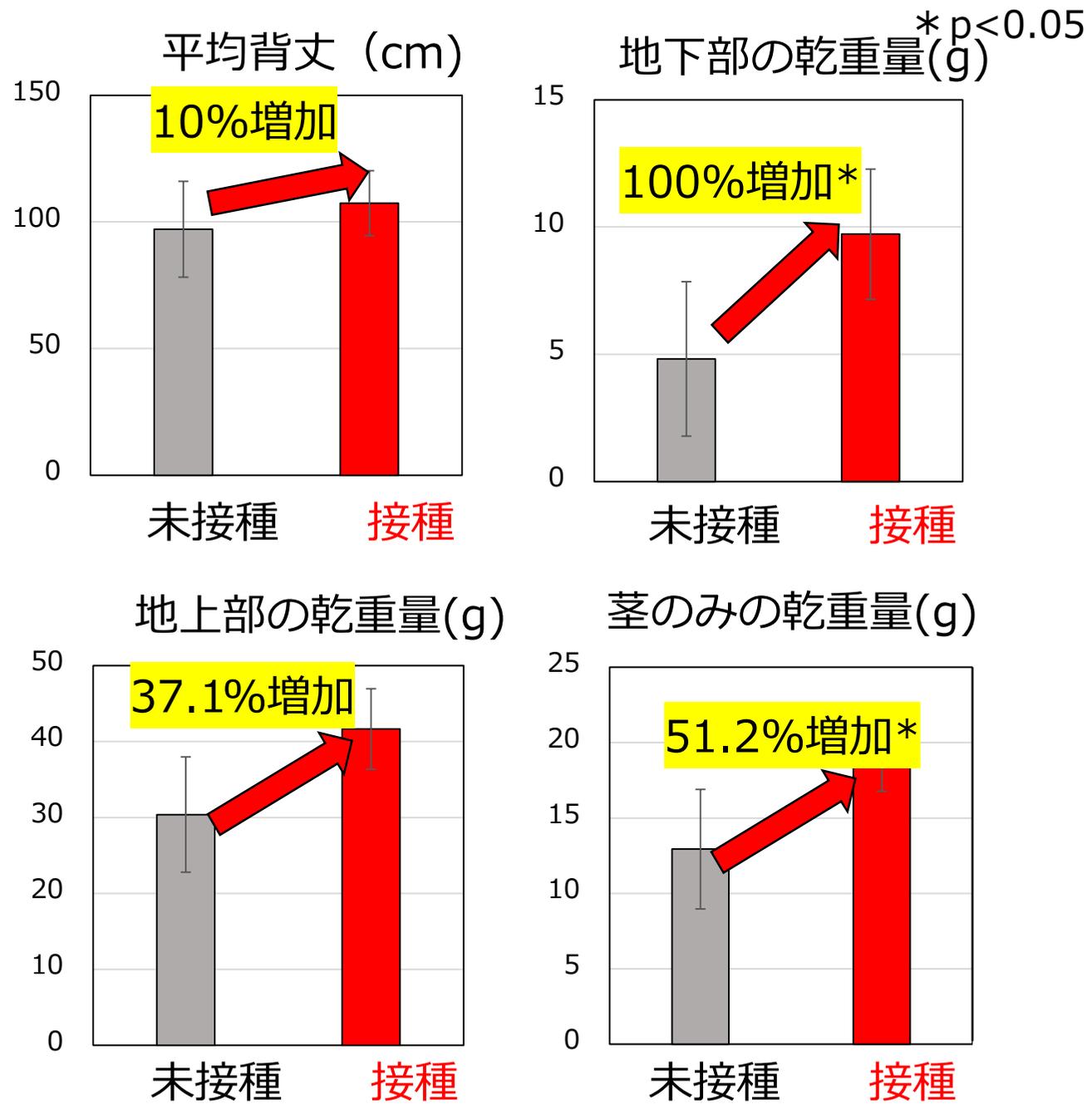
◆OS2C株のユーカリでの生育促進効果 (2回目@北海道)

約5カ月栽培 (N=5)



未接種

接種

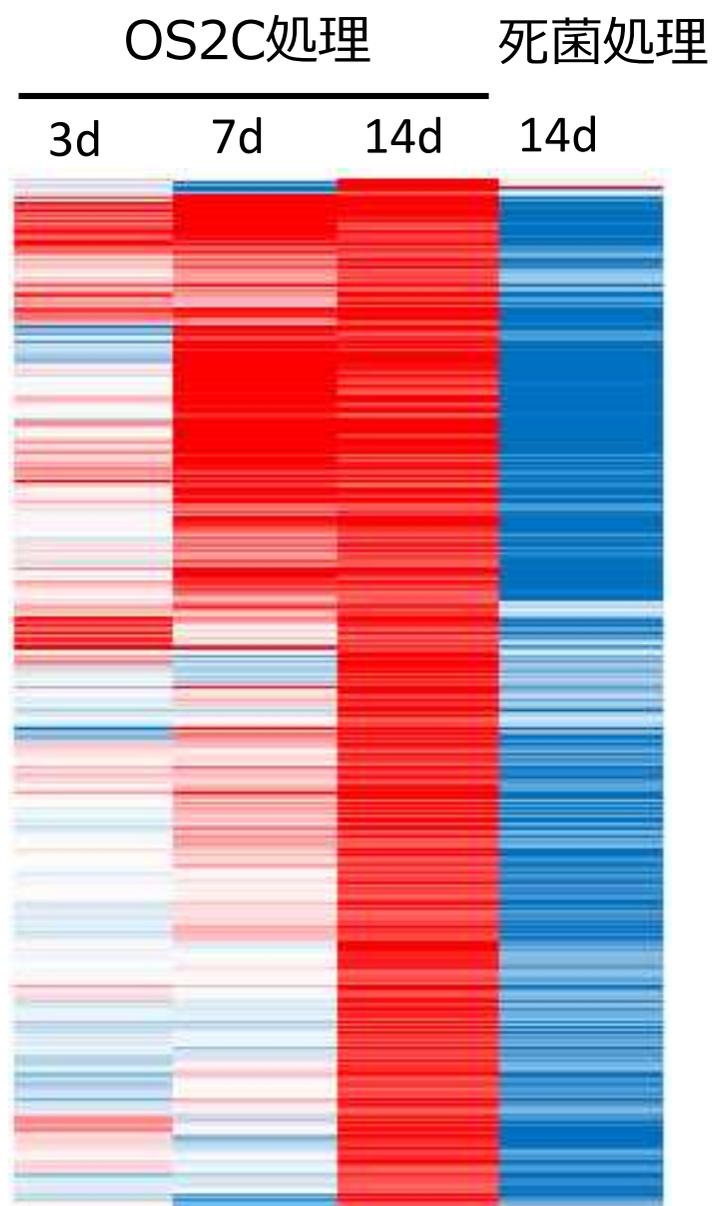


➤ 実用樹木でも明らかな生育促進効果を確認

進捗：新バイオマス植物に対して生育促進効果を有する共生微生物の探索・特定

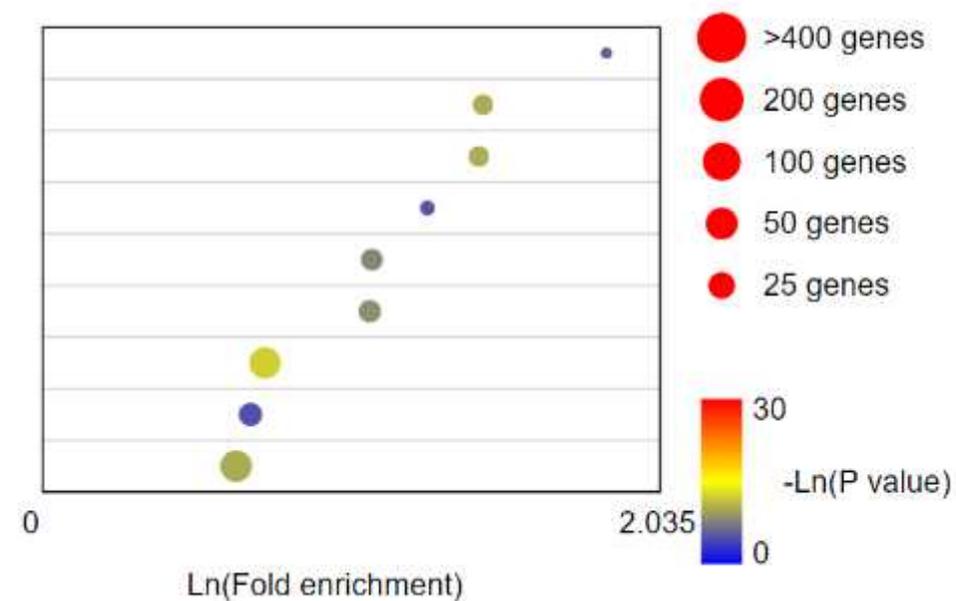
◆RNA-seqによるメカニズム解明（イネ）

Genes upregulated (FC>1.5, Q<0.05, CPM>0.1) in OS2C/NC 14d shoot (627 genes)



発現上昇遺伝子のエンリッチメント解析結果

plant-type cell wall organization
peroxidase activity
response to oxidative stress
metal ion transport
transporter activity
hydrolase activity, hydrolyzing ...
zinc ion binding
carbohydrate metabolic process
oxidation-reduction process



➤ OS2C処理は活性酸素除去系を活性化している？
→特許出願完了（特願2023-192519）

まとめ

- 特定の**1塩基置換**を持つNST転写因子を導入した**カラマツ**で約**30%の木質増強**を確認 → **特許出願完了**
- **細胞融合を促進する新素材**が**画期的に高い効果**を発揮することを発見 → **特許出願完了**
- **エリアンサス × ススキ**交雑植物の**耐寒性**がエリアンサスより**向上**していることを確認
- 特定の**植物共生微生物**が持つ**生育促進効果**のメカニズムを部分的に解明 → **特許出願完了**