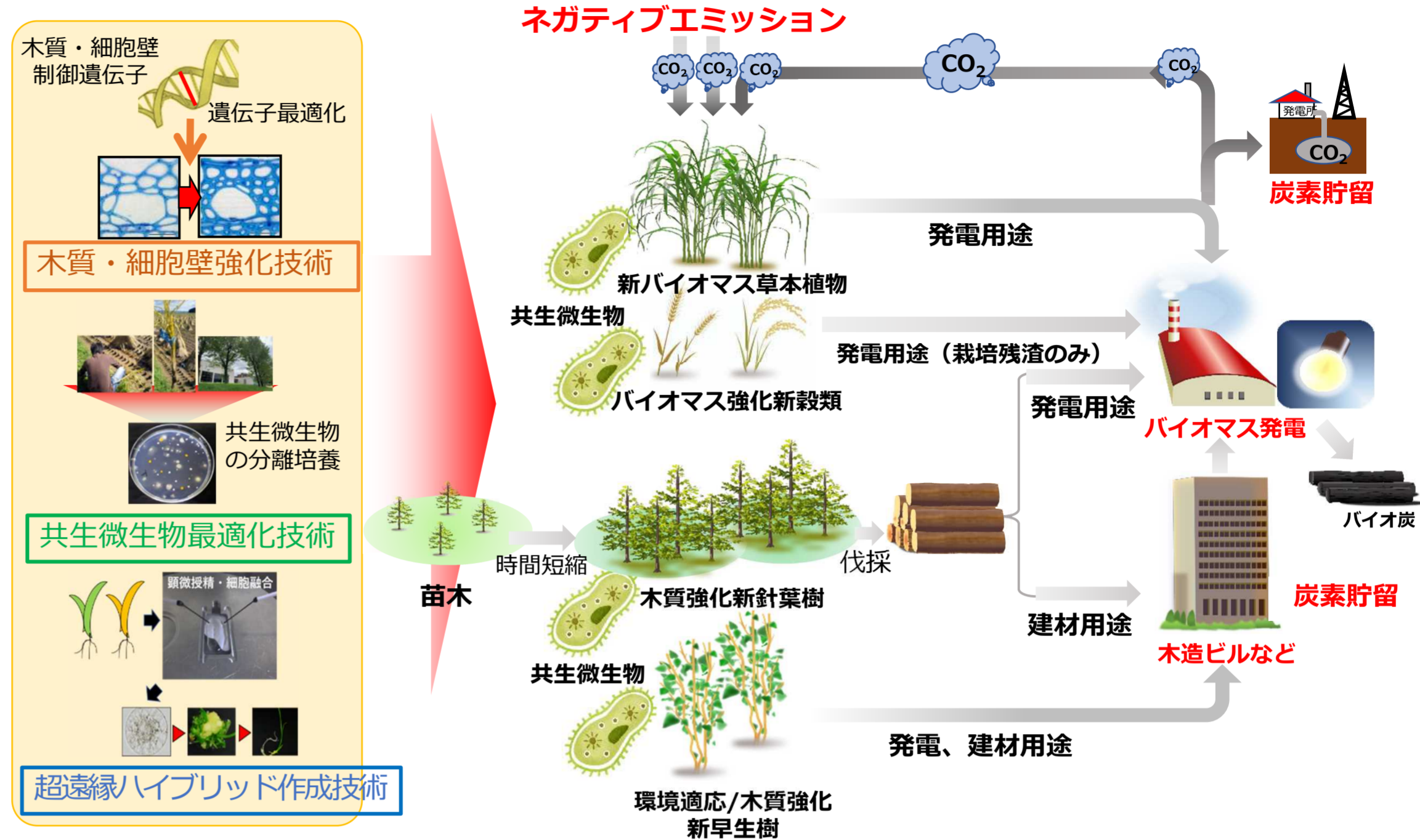


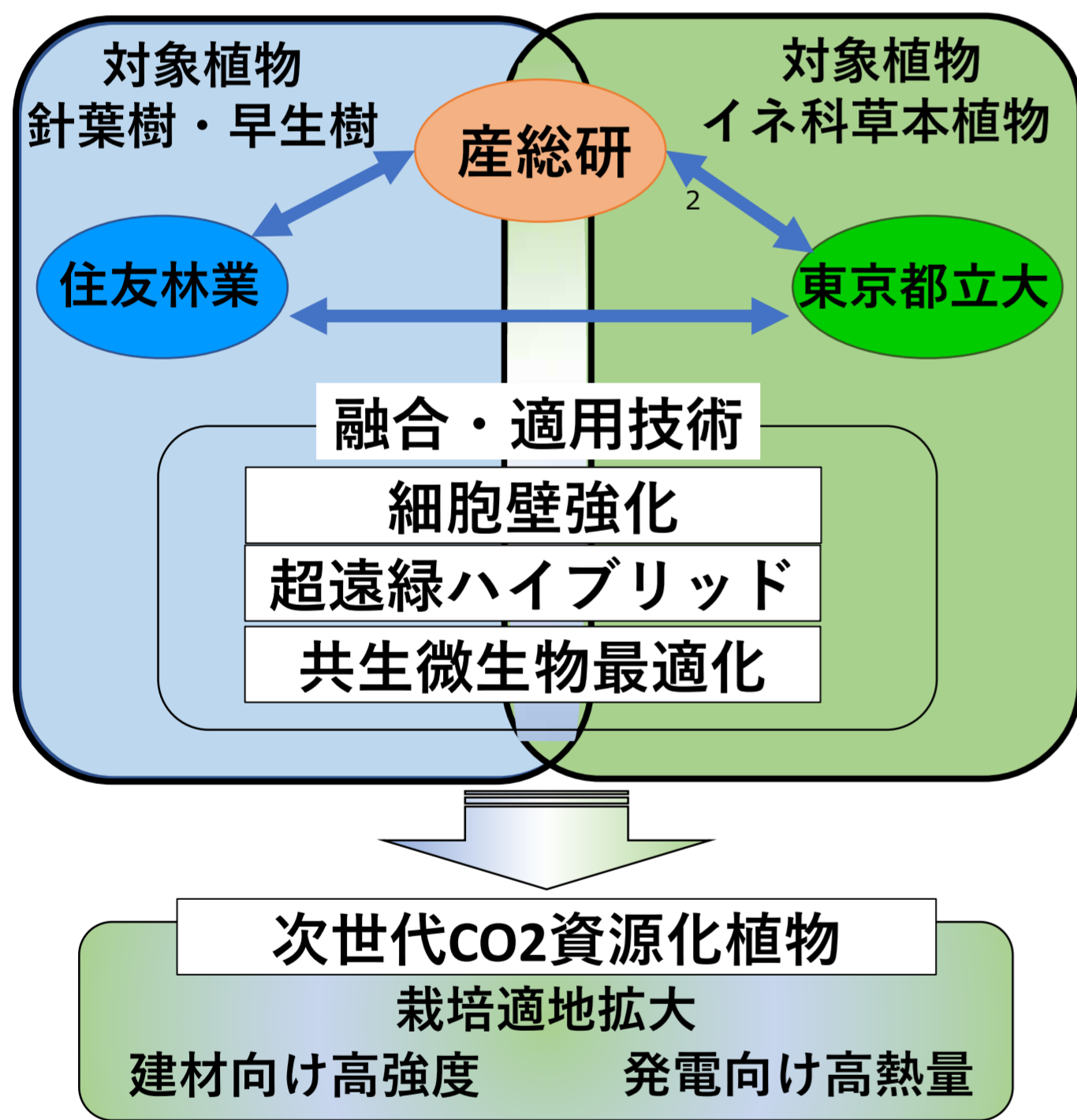
1. 要旨

低コストかつ大量にCO₂を固定化するため、栽培可能地域が広く、単位面積・時間あたりにより多くのCO₂を固定化でき、かつ、より高性能な木質バイオマスを生産できる植物（とその成長をサポートする技術）の開発が求められている。本研究開発ではCO₂固定化能力を強化した1. 木本系（針葉樹、早生樹）、2. 草本系、次世代CO₂資源化植物を創生する。どちらも単にCO₂固定化能力を強化するだけでなく、木材としての強度が高まることや伐採までの育成期間の短縮、栽培可能地域の拡大、バイオマス発電燃料としての適性（熱量、輸送効率）が高まることを目指す。1. については主に木質形成を強化する遺伝子最適化（ゲノム編集）技術を適用する。2. については超遠縁ハイブリッド作成技術および遺伝子最適化技術で製作する。いずれも生育段階においては共生微生物の最適化技術を適用する。このような要素技術を組み合わせ、次世代CO₂資源化植物とその利用戦略を確立する。

2. 全体概要図



3. 体制図

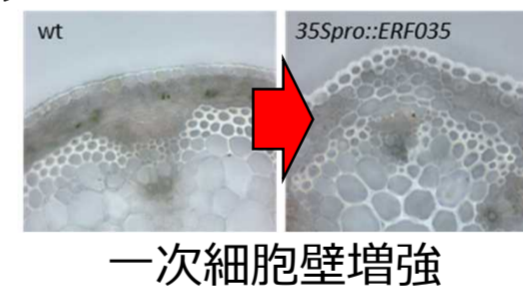
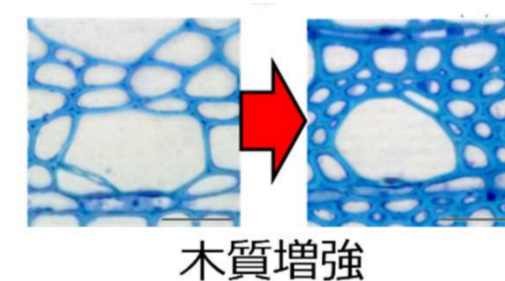


4. 三大コア技術

4-1. 遺伝子最適化

◆三大方針
ゲノム編集技術を基本とする

1. NST転写因子遺伝子強化による木質増強
2. 強度向上
➢ 高成長以外の社会実装メリット
3. 一次細胞壁増強 (草本系のみ)



※NST転写因子とは

木質（二次細胞壁）形成のマスター制御因子。機能を失うと木質がなくなり、機能が向上すると木質が強化される。

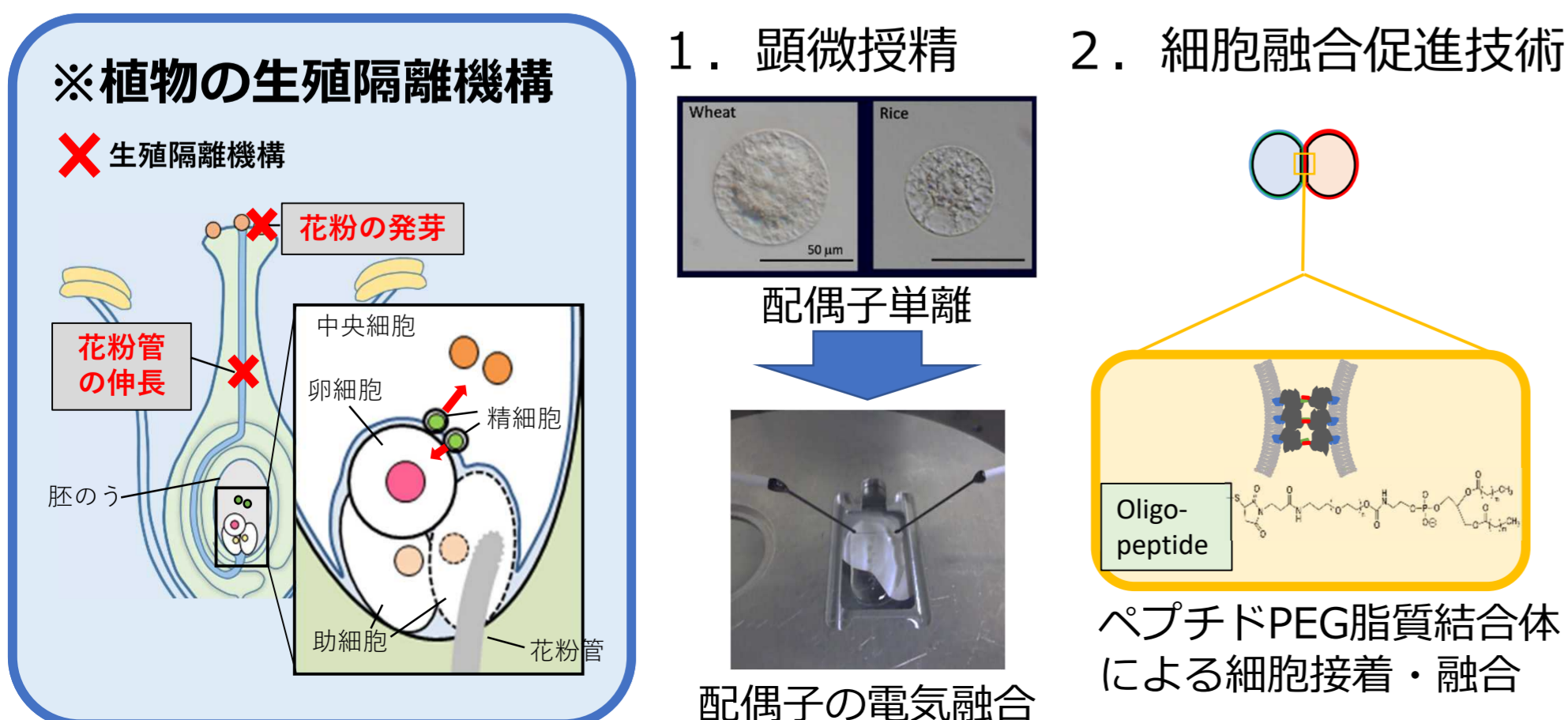
通常株 NST
ノックアウト

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

4-2. 超遠縁ハイブリッド作成

◆超遠縁ハイブリッド作成技術とは

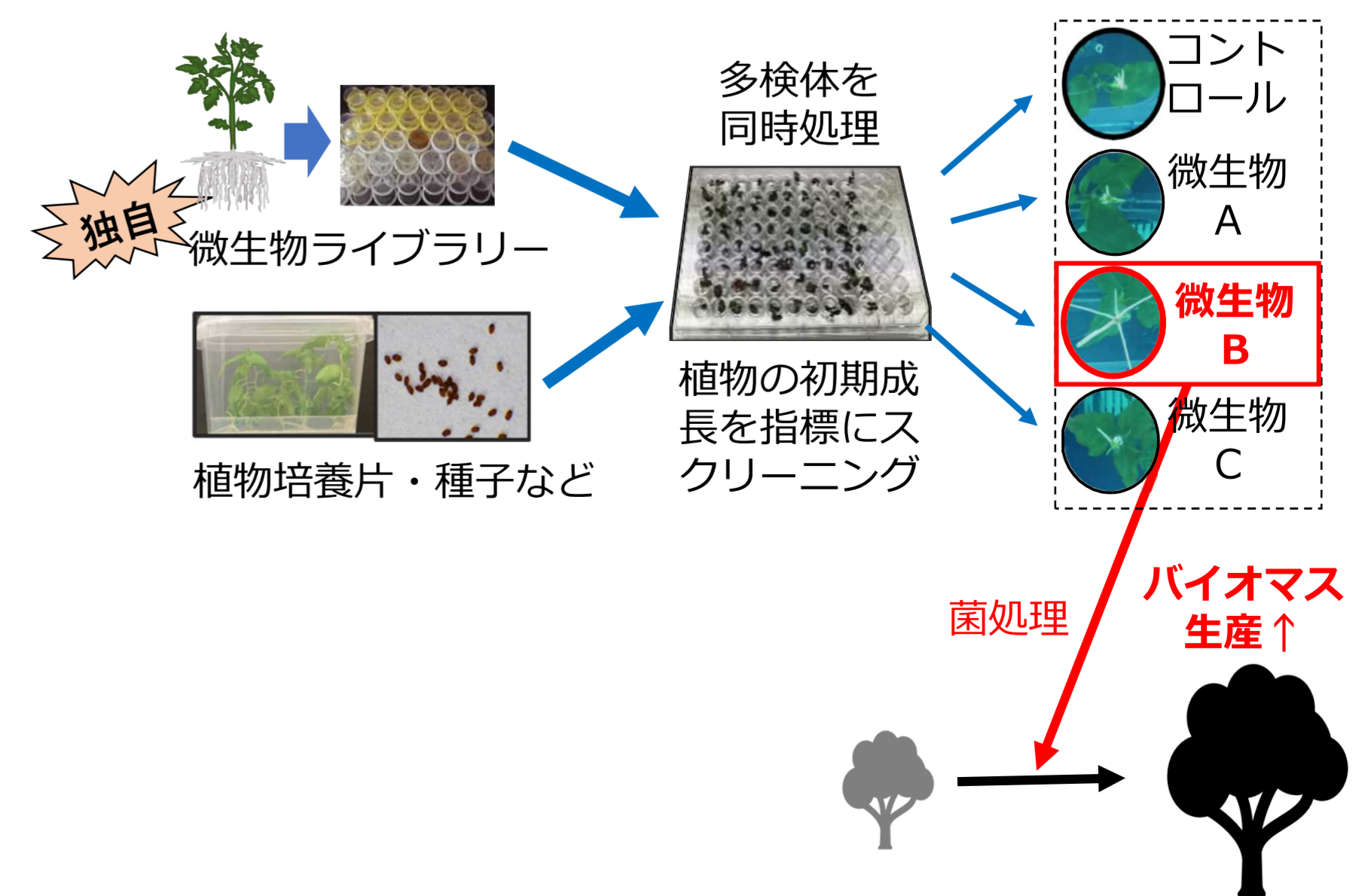
通常は交配できない異種間の生殖隔離を「顕微授精」や「細胞融合」によって乗り越える技術



➢ バイオマス強化や栽培適地の拡大が可能な植物を開発する

4-3. 微生物共生

◆植物の成長を促進する共生微生物の探索



テーマ名: 多様な植物の成長促進効果を有する共生微生物株の獲得

担当機関名: 産業技術総合研究所

問合せ先: 産業技術総合研究所 玉木秀幸 tamaki-hideyuki@aist.go.jp

要旨

土壌や植物の根圏には多様な微生物が存在する。農薬や化学肥料の使用量を低減した植物栽培プロセスを実現する上で、植物成長促進細菌 (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPR) の活用が注目されている。我々は、水稻の茎に内生する放線菌ストレプトマイセス・サーモカルボキシデウス (*Streptomyces thermocarboxydus*) OS2C株が、イネの栄養成長期における生育を促進するとともに、収穫期における籾の生産性を顕著に向上させることを発見した。また、OS2C株の接種により、イネだけでなくエリアンサなどの草本種や、ポプラやユーカリなどの樹木種の生育においても促進効果を示すことを明らかとした。さらに、実験室内の栽培環境下において、ポプラの休眠を抑制する作用を見出した。以上の結果は、OS2C株が広範な植物種に有益な効果をもたらす有用微生物資材として、CO₂資源化に貢献しうること示唆するものである (特許出願完了: 特願2023-192519)。本発表では、OS2C株の多様な植物種に対するバイオマス生産性向上効果等について詳細に紹介する。また、OS2C株の接種の有無によるイネの遺伝子発現の比較解析の結果に基づいて、OS2C株の作用機序についても議論したい。

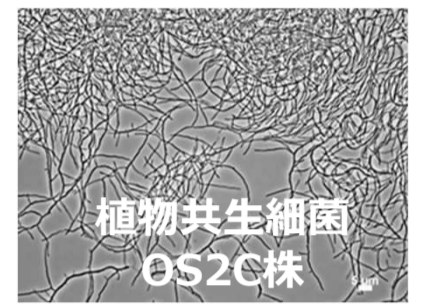
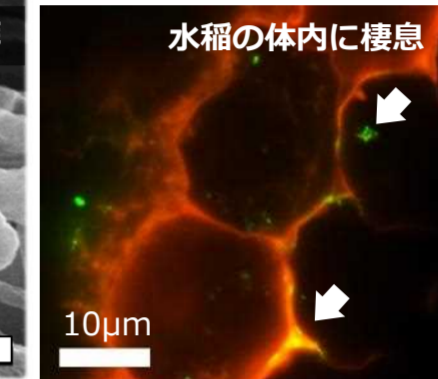
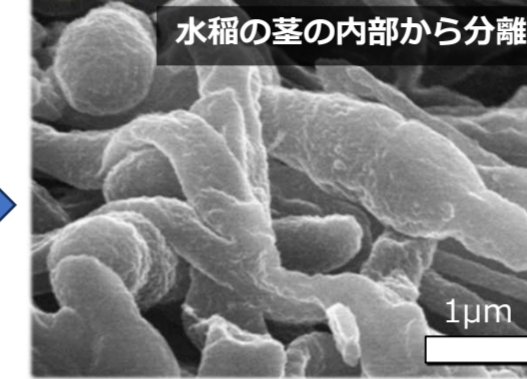
水稻に内生する放線菌 ストレプトマイセス・サーモカルボキシデウス (*Streptomyces thermocarboxydus*) OS2C株の純粋分離

圃場の収穫期のイネ



内生微生物の分離培養

OS2Cの単離

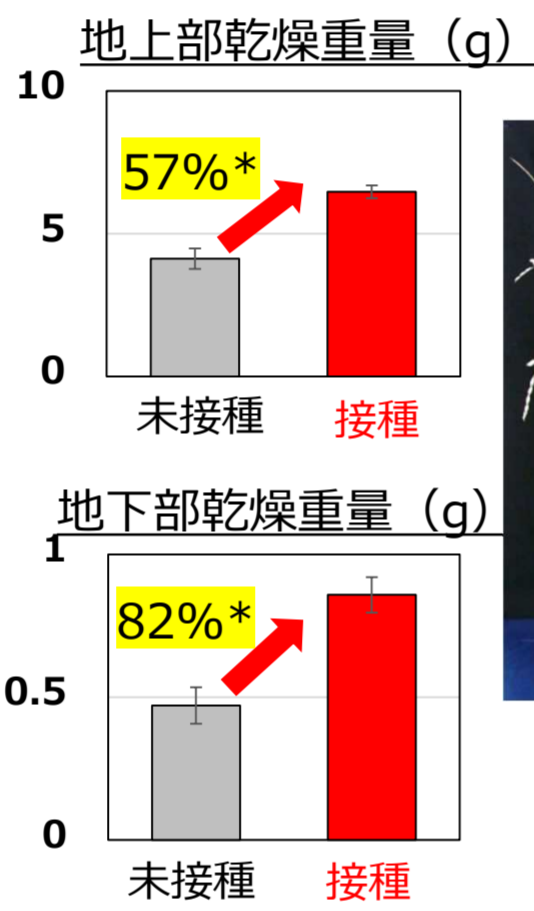
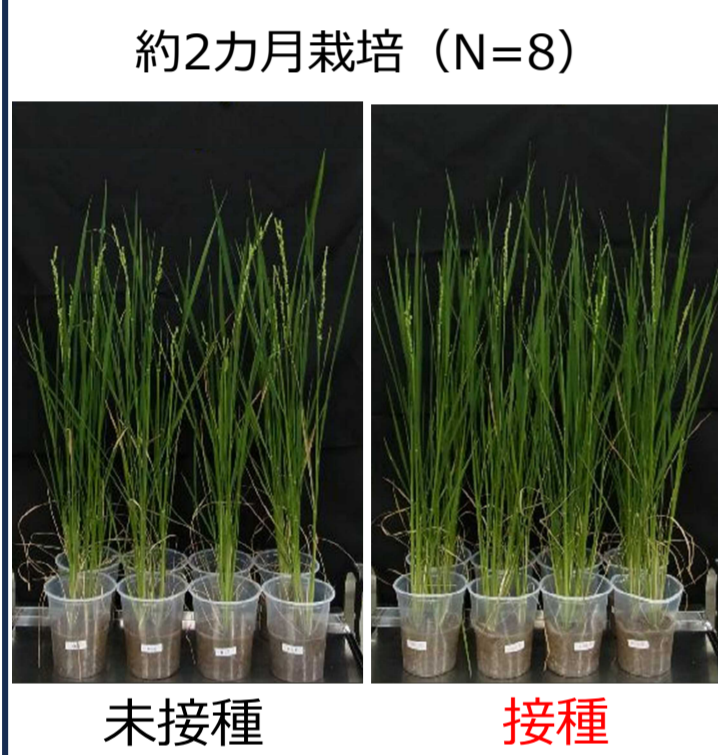


(Kanno et al., Environ. Microbiol. 2016)

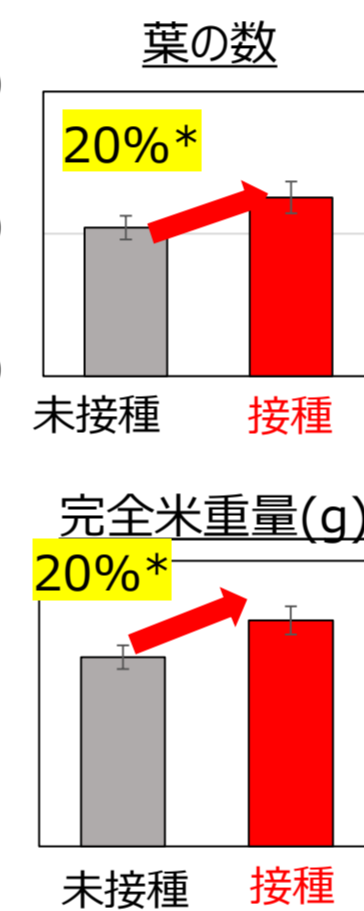
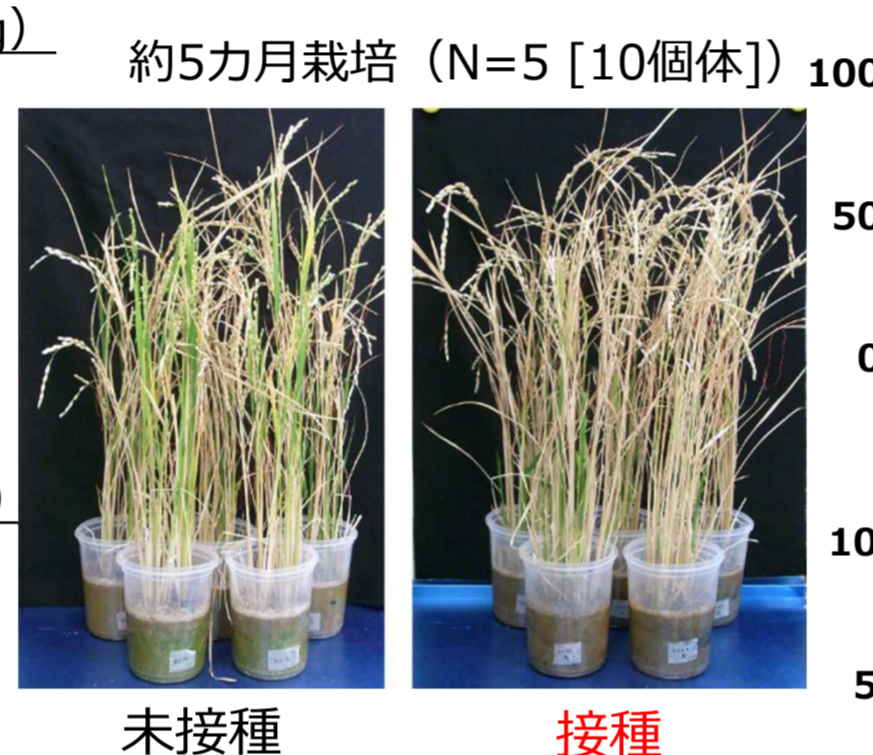
1. 草本系植物におけるOS2C株の成長促進効果

イネにおけるバイオマス生産性及び籾生産性の向上

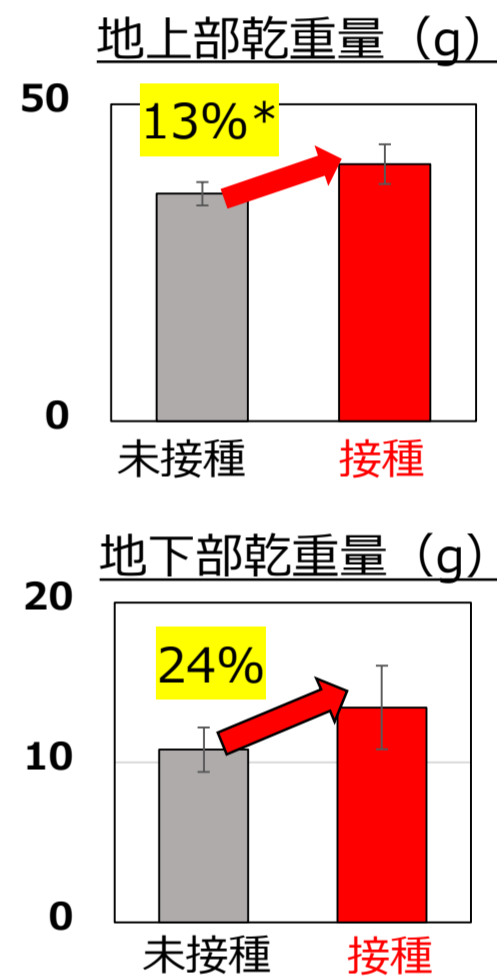
◆イネでの生育促進効果 (栄養成長期)



◆イネでの生育促進効果 (収穫期)



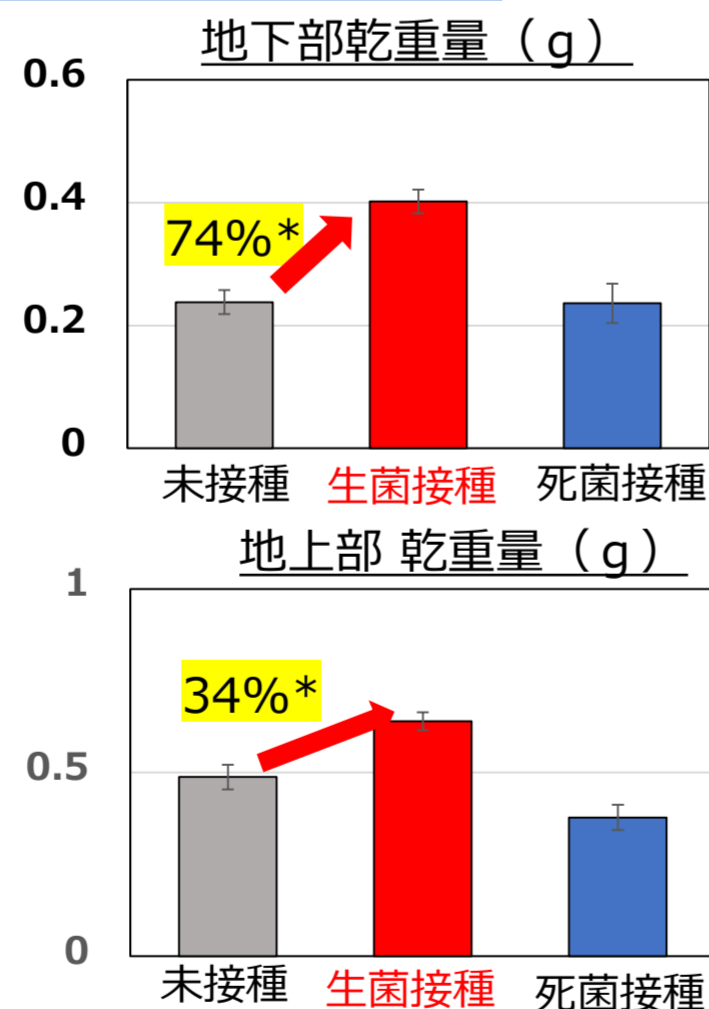
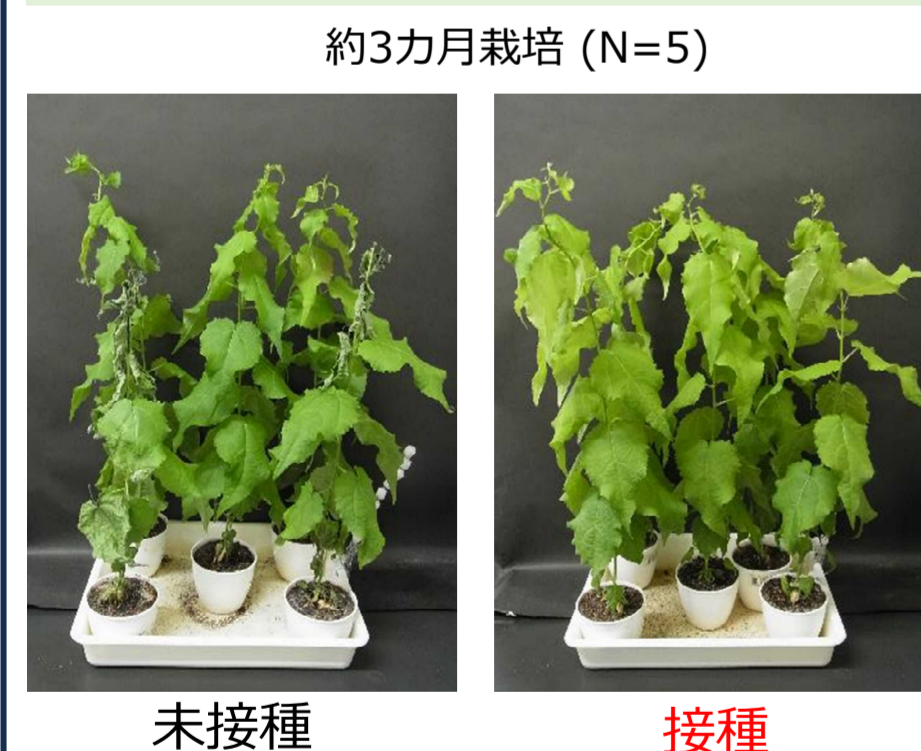
エリアンサにおけるバイオマス生産性の向上



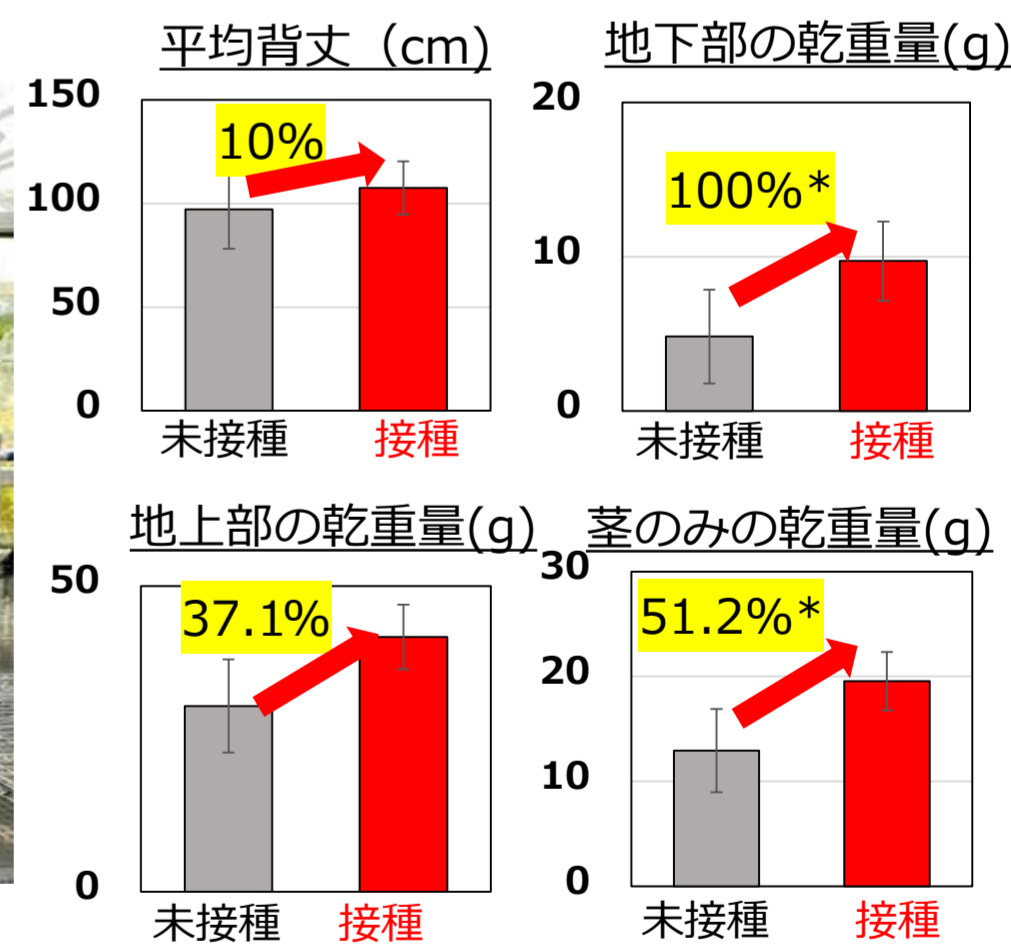
2. 木本系植物におけるOS2C株の成長促進効果

ポプラにおけるバイオマス生産性の向上

◆OS2C株のポプラでの生育促進効果



ユーカリにおけるバイオマス生産性向上



3. OS2C株のその他の有用機能

ポプラでの休眠抑制効果

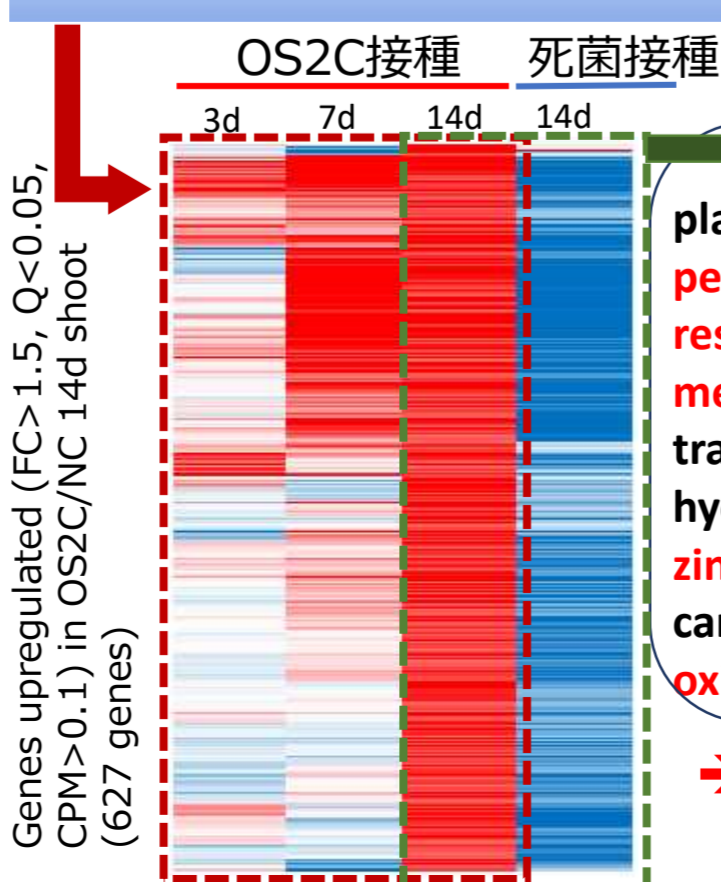


4. イネの網羅的遺伝子発現比較解析 (RNA-Seq) を通じた

OS2C株による成長促進効果に関する分子機構の解析

未接種イネに比べて、

OS2C接種イネにて特異的発現を示す遺伝子群

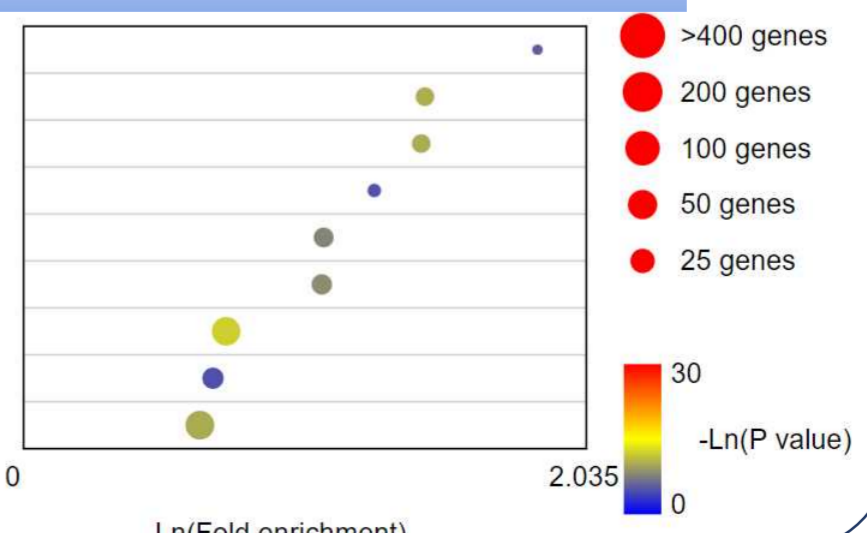


死菌処理に比べて、

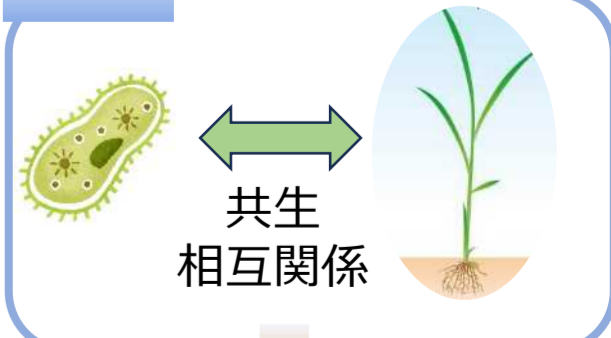
OS2C接種イネにて高い発現レベルを示した遺伝子群

- 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

→ 活性酸素消去系の遺伝子群が高い発現傾向



考察



活性酸素関連シグナルの活性化?

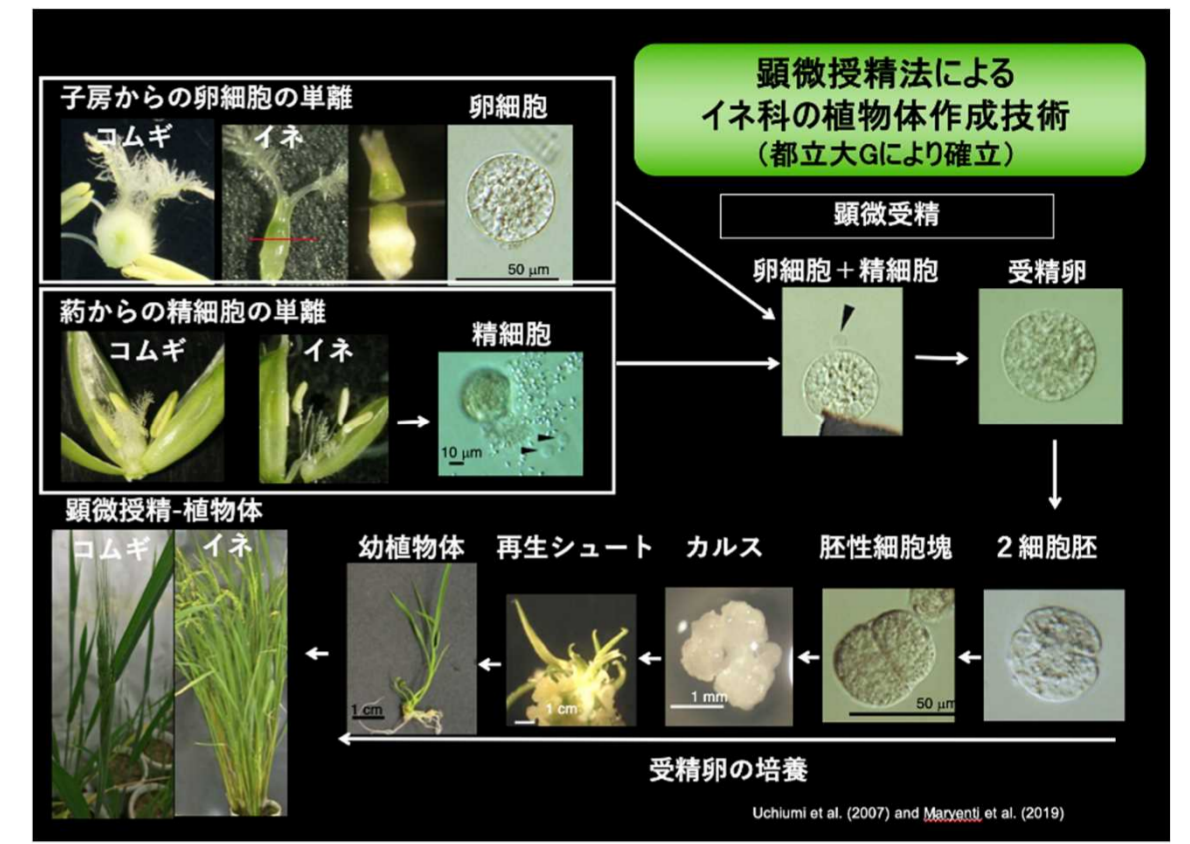
成長促進 ストレス耐性

研究の概要および目的

大気中の希薄なCO₂を吸収して低コストに固定化できる手段としては、幅広く栽培されている植物(作物)を利用する技術が最も現実的なものの一つである。世界の穀物生産の約6割を占めるイネとコムギの残バイオマスの有効利用はなされておらず、バイオマスの有効活用に適した形質、すなわち効率よくCO₂を固定化する形質をイネやコムギに付与することが重要になる。

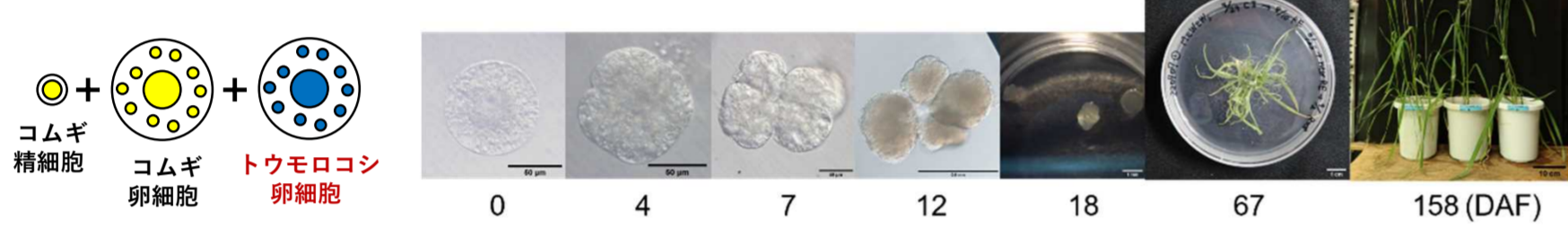
また、エリアンサスなどの高バイオマス植物は熱帯・亜熱帯起源であることから温帯域ではそのバイオマス生産能が十分に発揮できておらず、耐寒性などを新たに付与することが、高効率CO₂資源化バイオマス植物の創出に繋がる。

本テーマにおいては、顕微授精法によってこれまで交配が不可能であった異種植物間の交雑植物を作出し、それら新奇植物の中から高い効率でCO₂資源化を行う新たなコムギ、イネ、およびエリアンサスなどを選抜することで、高効率CO₂資源化作物・植物を創生する技術要素を確立する。さらには、異種細胞(配偶子)の選択的融合を促進する新奇細胞表面修飾材料の開発を進めることで、新たな超遠縁ハイブリッド作出の技術要素とする。

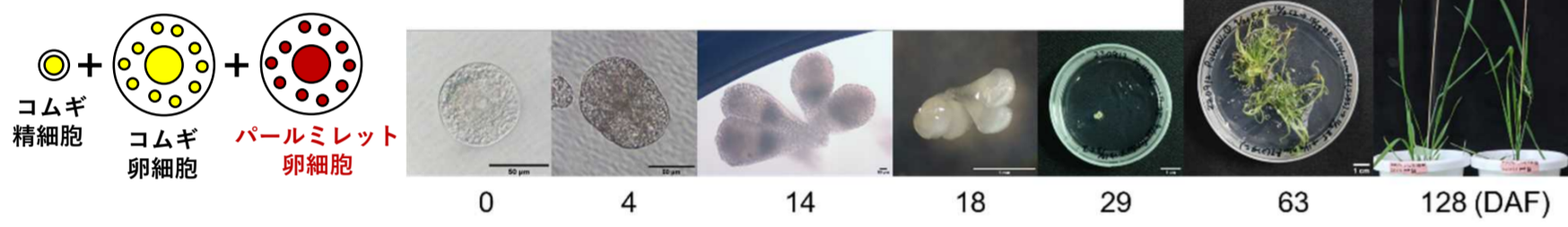


新たなイネ・コムギの創生に向けた要素技術の確立とその可能性の検証

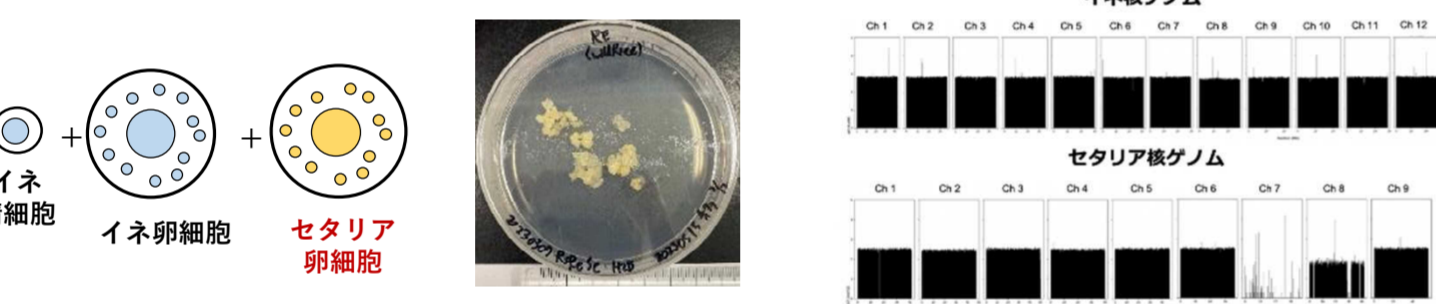
◆コムギ × トウモロコシ交雑植物の作出



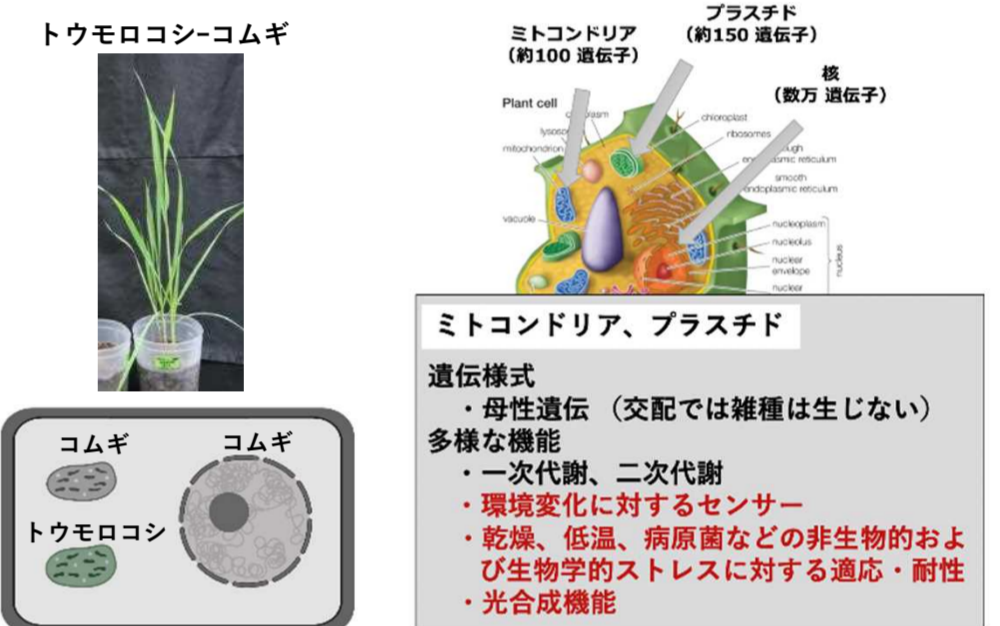
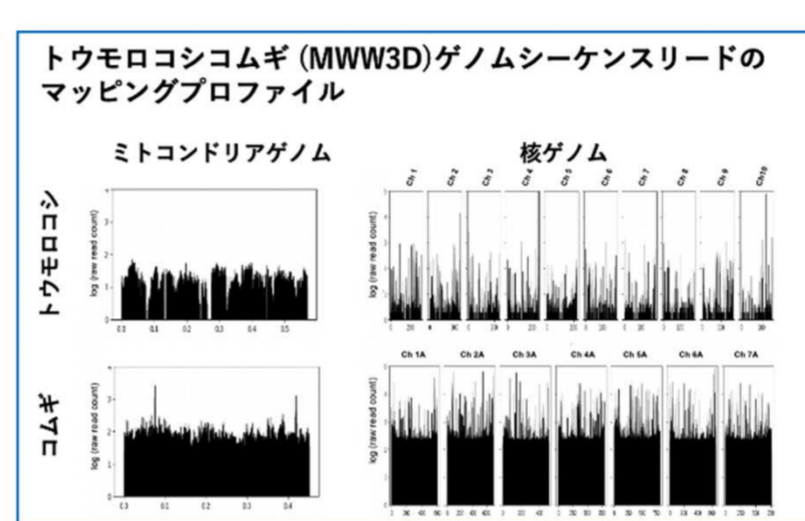
◆コムギ × パールミレット交雑植物の作出



◆イネ × セタリア交雑受精卵由来カルスおよびそのゲノム組成



◆コムギ × トウモロコシ交雑植物のゲノム組成



《今後の方針》

- 農業形質、生理的形質の調査
- トウモロコシ-コムギ種子の増殖率
- 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

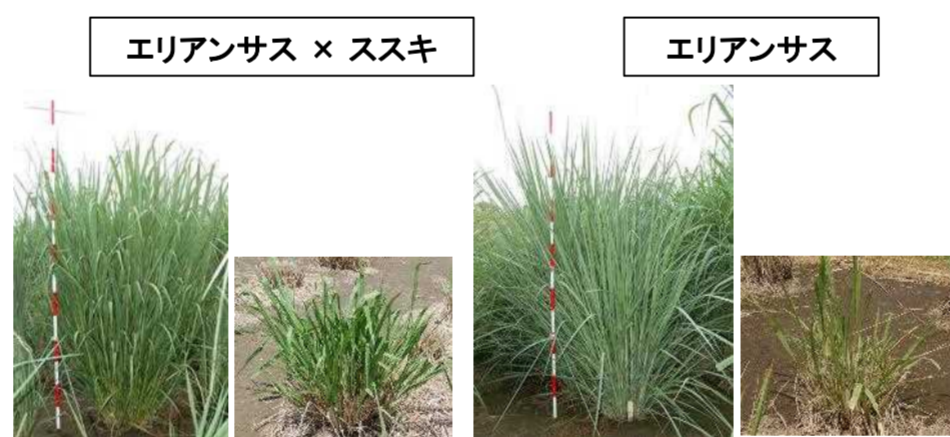


新バイオマス植物の創生に向けた要素技術の確立とその可能性の検証

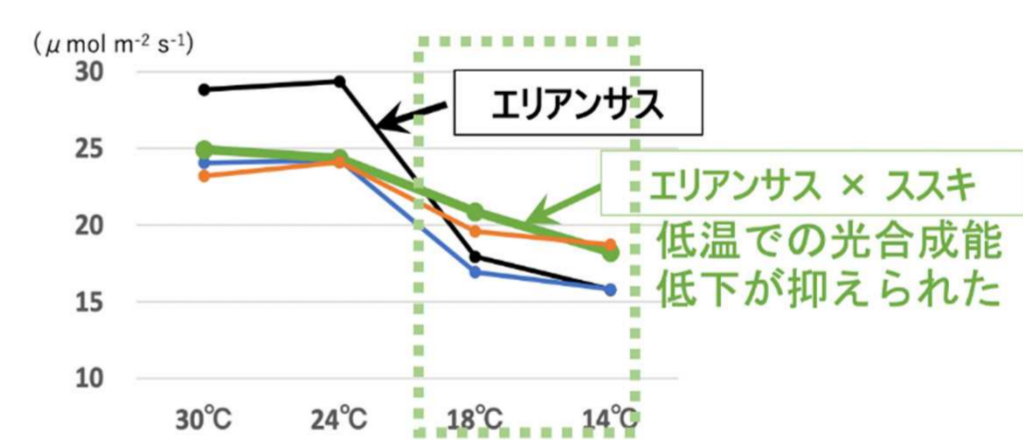
◆交配によるエリアンサス × ススキ作出



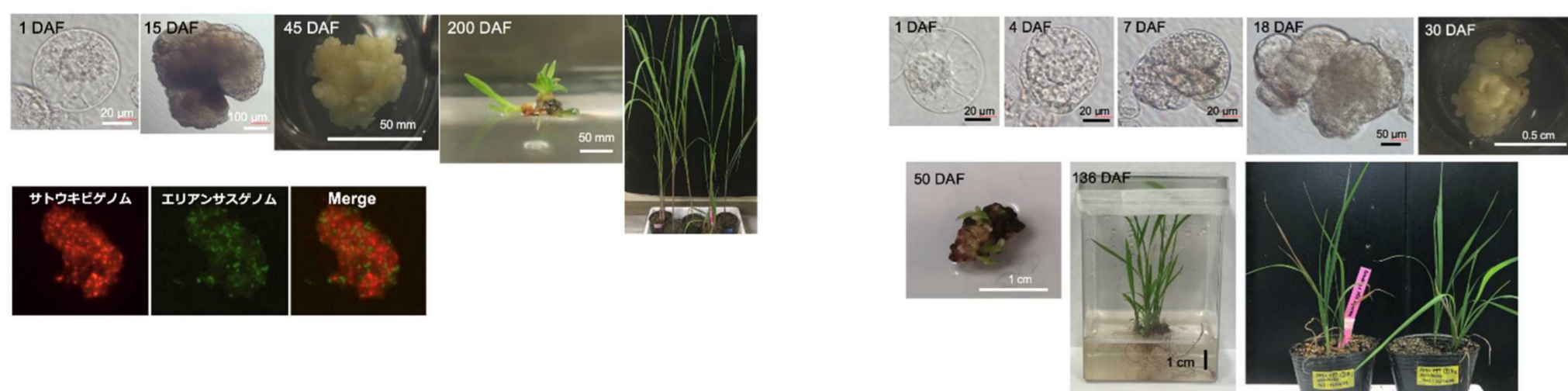
◆北関東における生育・越冬性



◆様々な温域での光合成活性



◆エリアンサス×サトウキビ(左) およびエリアンサス×サトウキビ/ススキの三重交雑体候補(右)の作出

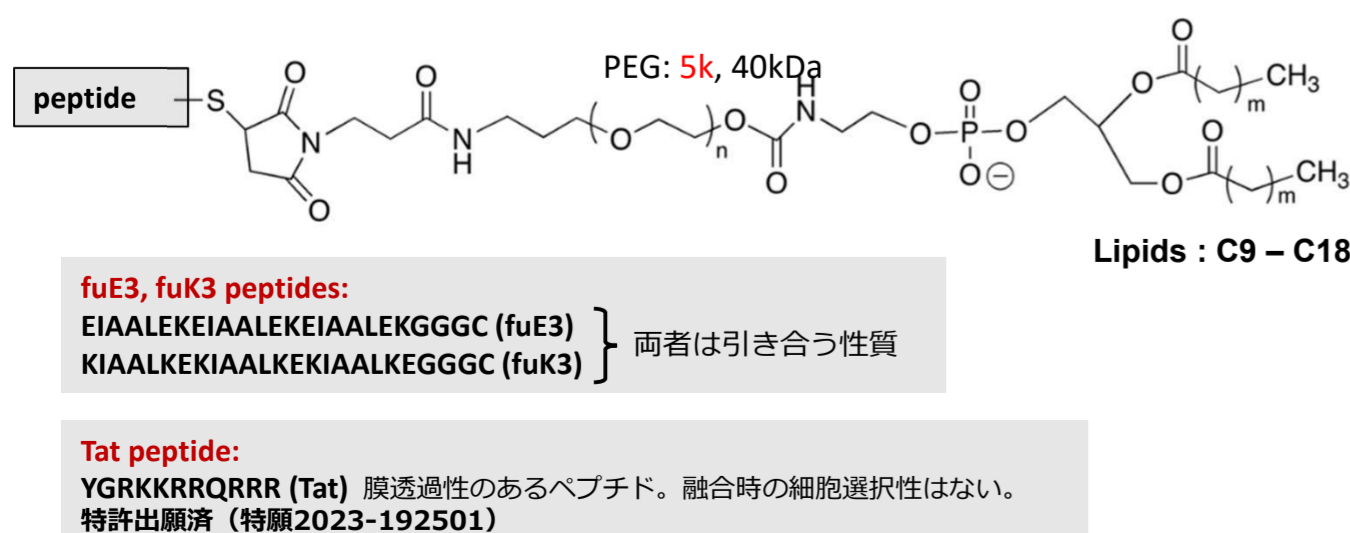


《今後の方針》

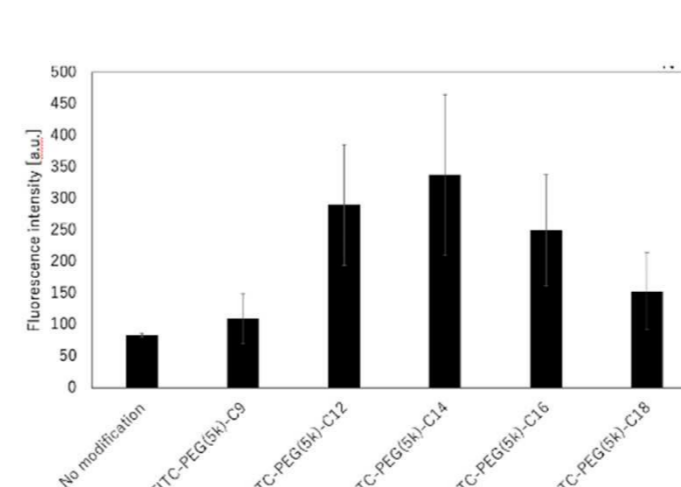
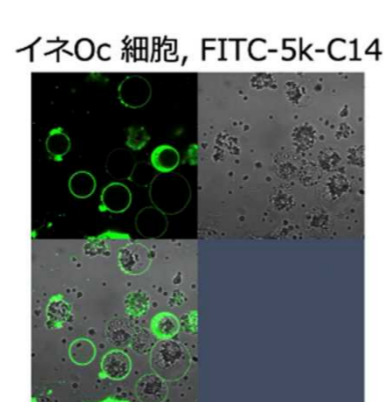
- 耐寒性、バイオマス生産能、光合成能力などの形質評価の実施
エリアンサス × ススキ属雑種について石垣島(国際農研)、鳥取(鳥取大)、秋田(秋田県立大)にて耐寒性、バイオマス形質などを評価する栽培試験を実施
エリアンサス-サトウキビ雑種およびエリアンサス × サトウキビ/ススキ三重交雑体の形質評価に向けた株増殖および基本的生育特性評価

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

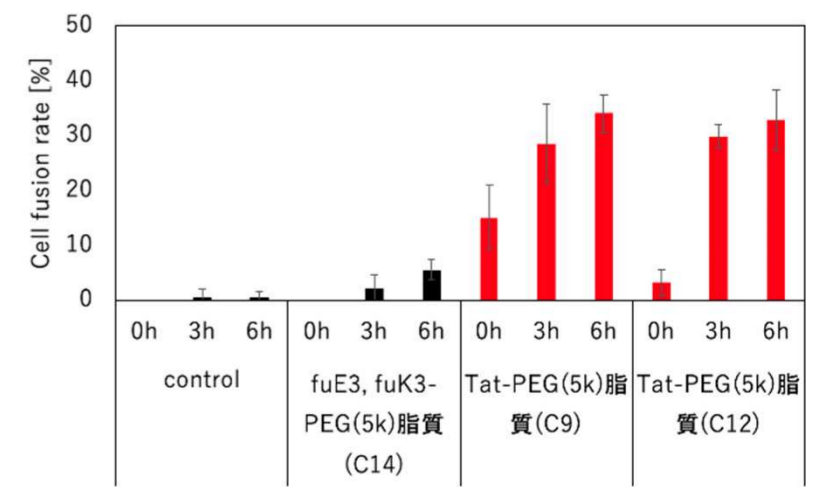
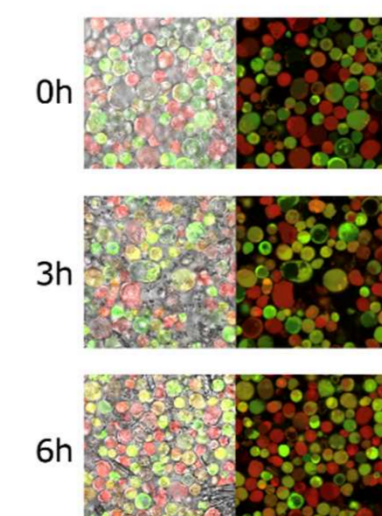
◆2種類のペプチドPEG脂質結合体



◆イネ培養細胞を用いた至適炭素鎖長の決定



◆イネプロトプラストの融合効率



《今後の方針》

細胞表面修飾材料(細胞融合促進剤)の更なる改良
オリゴペプチド部分をオリゴDNAに変更した新材料を開発し、培養細胞あるいは葉肉細胞のプロトプラストを利用した細胞融合実験での効果を検証する。効果が確認できた際はユーカリプロトプラストやイネ科植物配偶子融合に適応する。

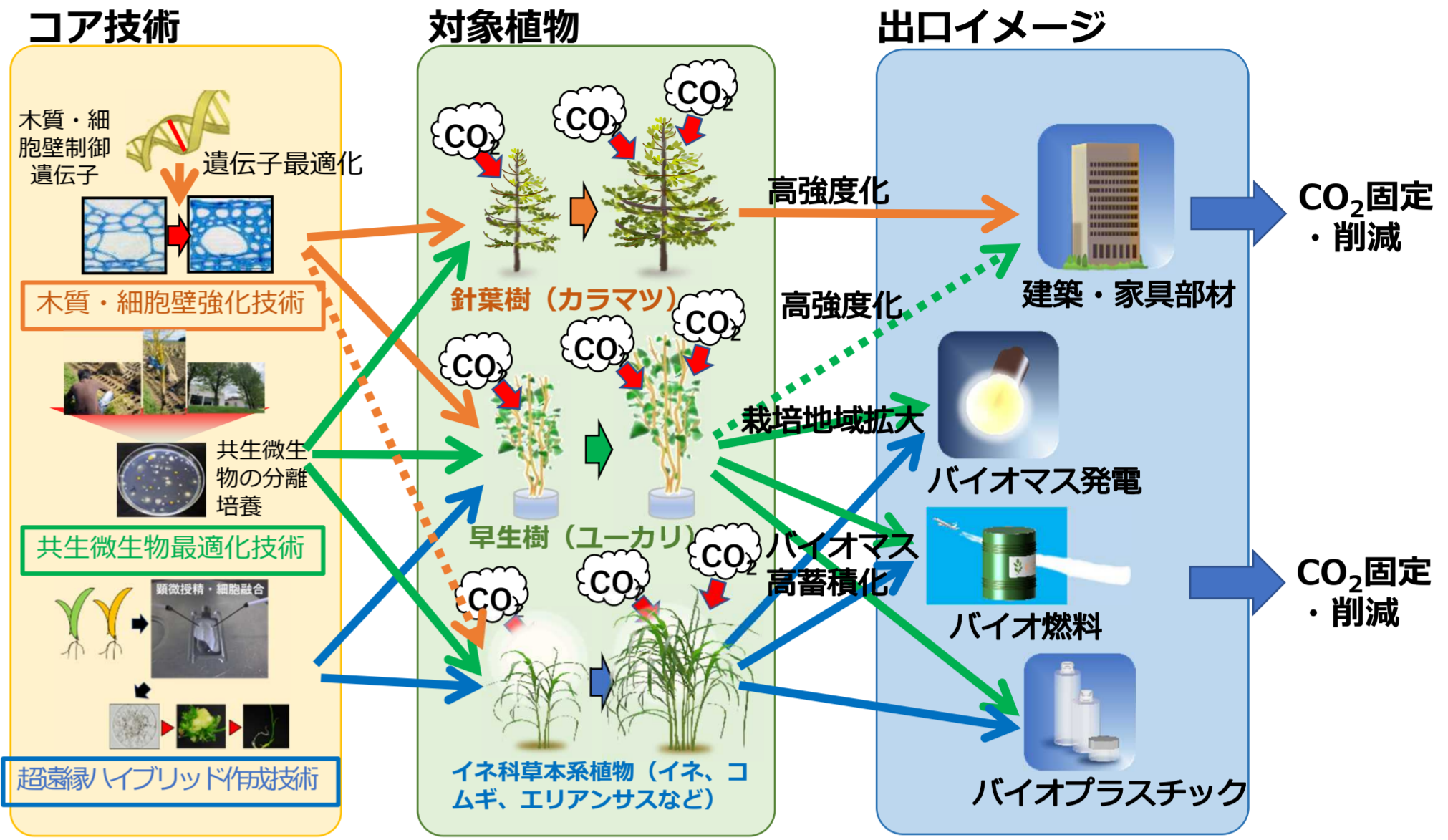
研究概要

本プロジェクトでは三つのコア技術を駆使し、CO₂固定能が高だけでなく、産業利用上の付加価値が高い木質バイオマスが得られる植物（とその成長をサポートする技術）の開発を目指している（右図）。

本テーマでは、木質形成のマスター制御因子であるNST転写因子の高活性化（木質・細胞壁強化技術）によってCO₂固定化能力が高く、かつ木造高層建築に利用可能な高強度な木材を生み出す樹木の開発を進めている。これまでに、遺伝子に変異を導入したNST転写因子の活性を網羅的に解析し、高活性化変異を特定した。さらに、高活性化変異を導入（遺伝子最適化）したNST転写因子を発現させた植物において、木質・細胞壁が強化されることを実証した。

また、高強度樹木の社会実装を見据えて、遺伝子最適化の方法は遺伝子組換えではなく塩基置換型ゲノム編集の適用を考えており、そのための技術確立に取り組んでいる。

プロジェクト全体概要図



成果まとめ

- NST転写因子の高活性化変異を特定
- NST高活性化変異による木質増強効果の実証
- カラマツのゲノム編集システムの確立

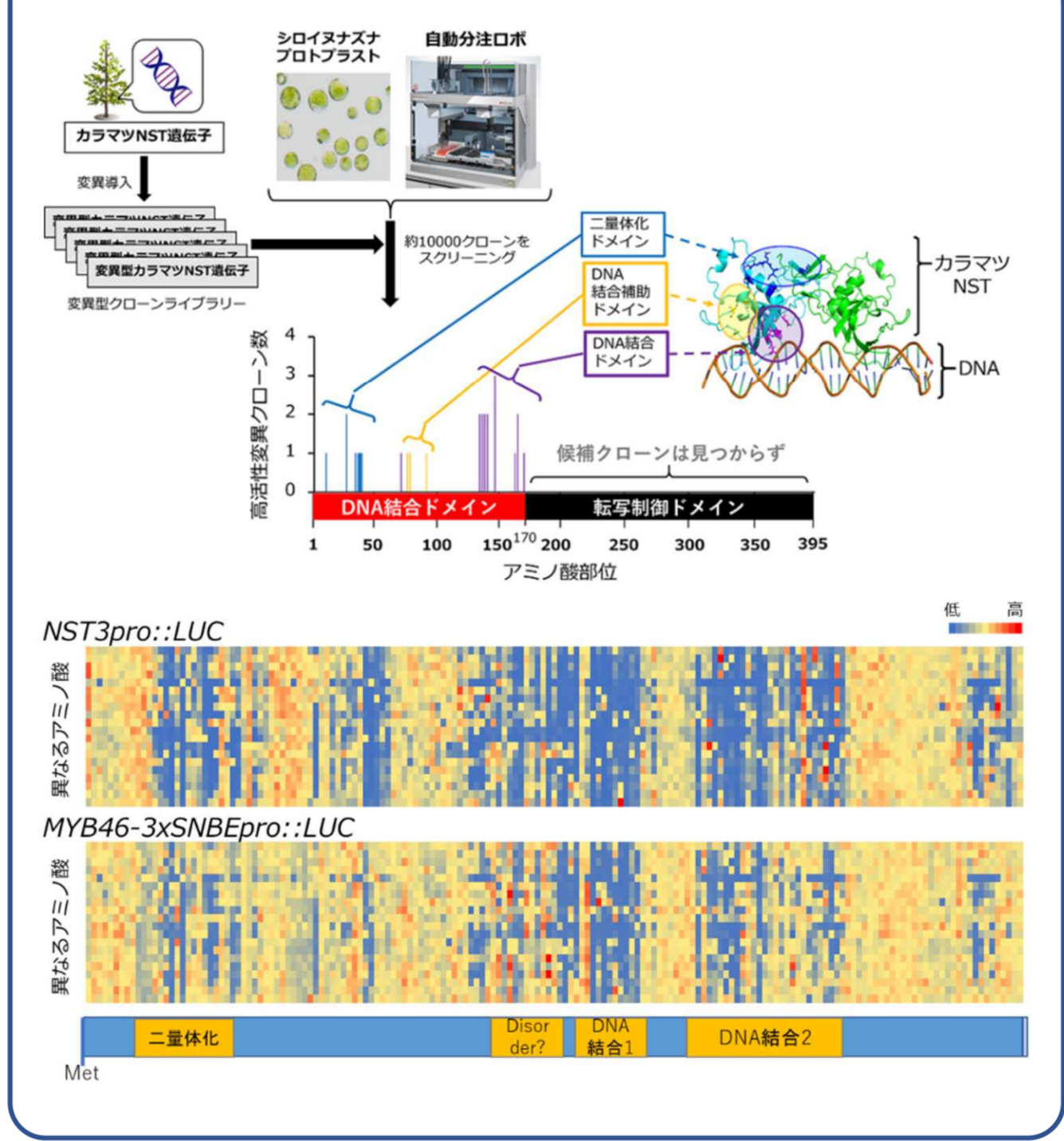
植物の木質形成を制御する鍵因子であるNST転写因子遺伝子を同定(産総研)



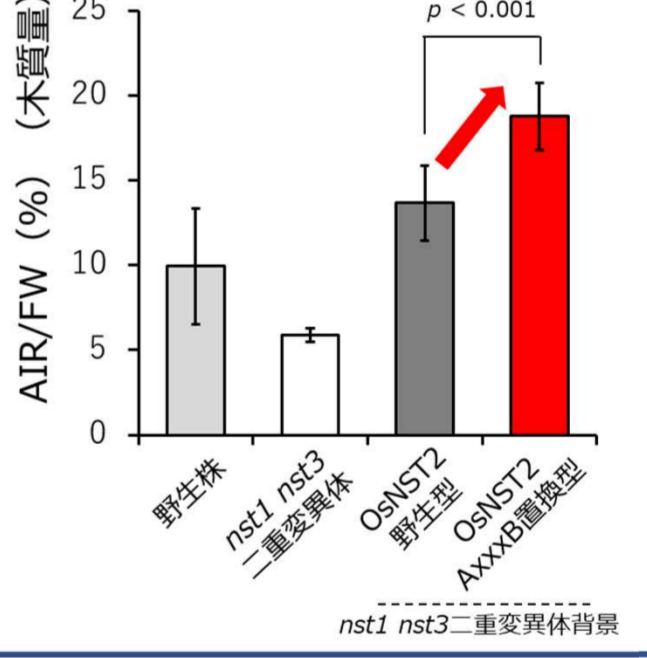
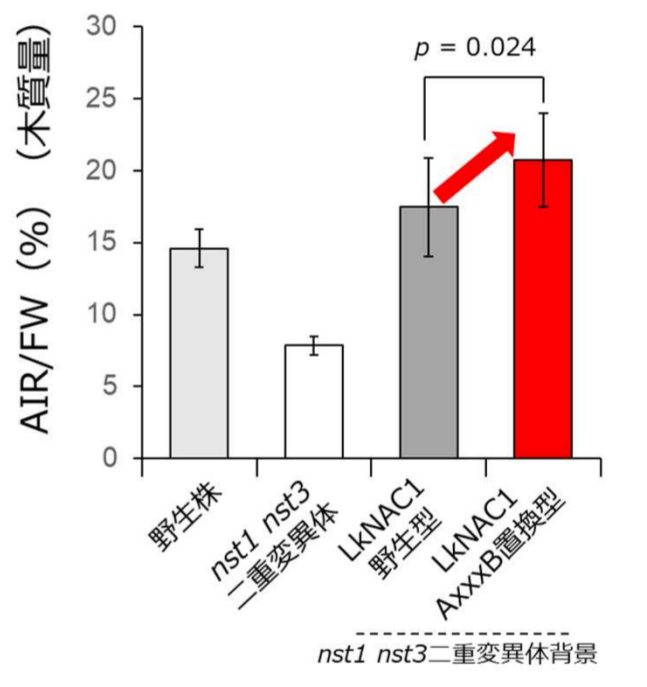
通常株 NST ノックアウト

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

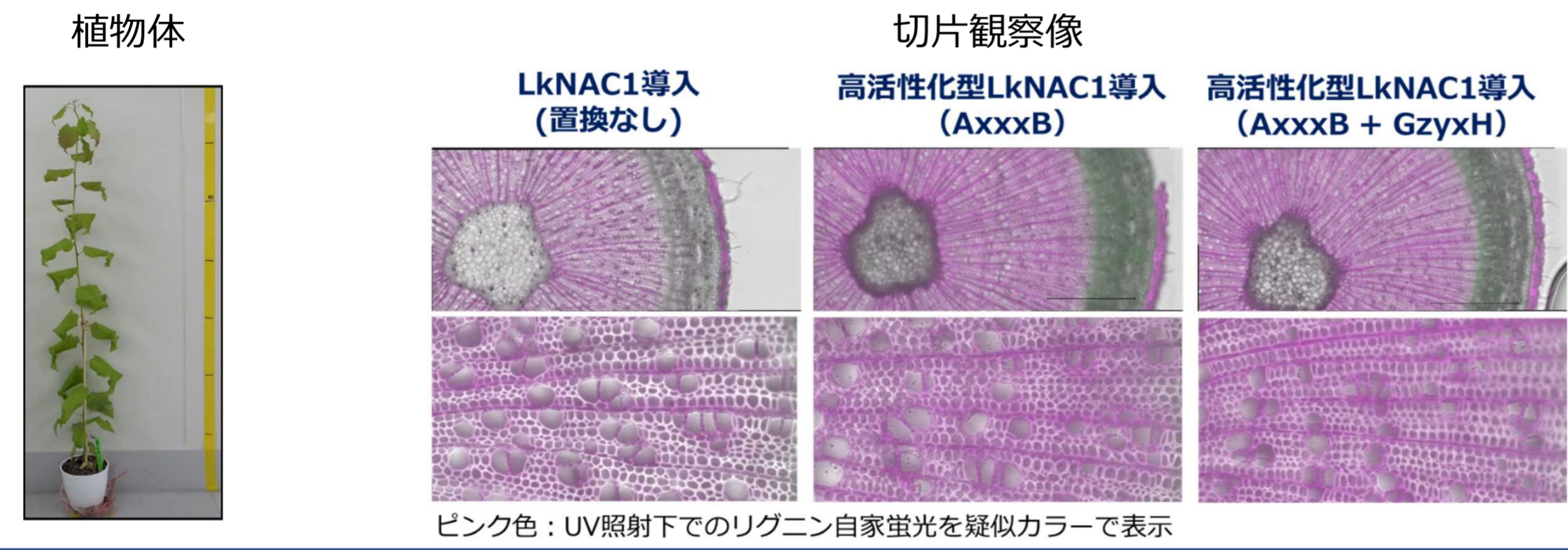
高活性化型NST転写因子の同定



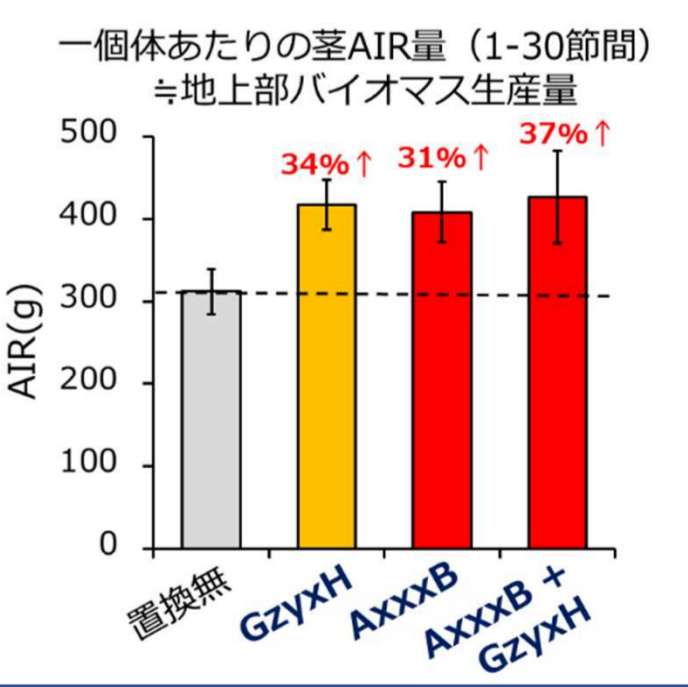
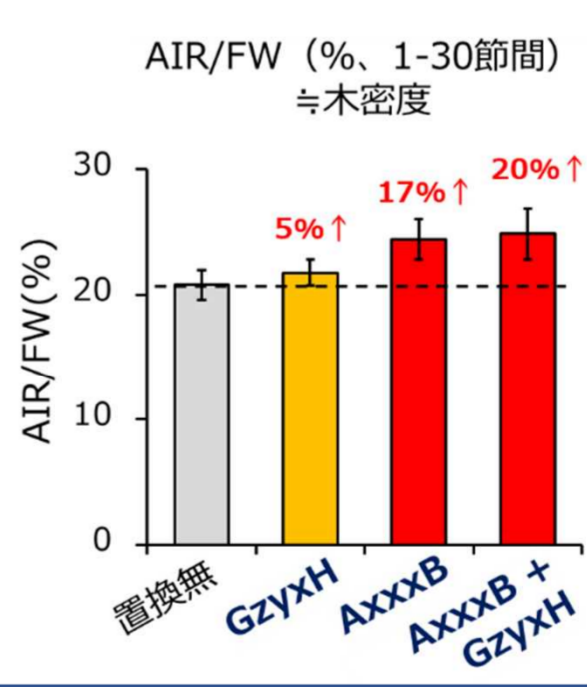
有望変異を持つNST転写因子遺伝子を導入したシロイヌナズナの木質量



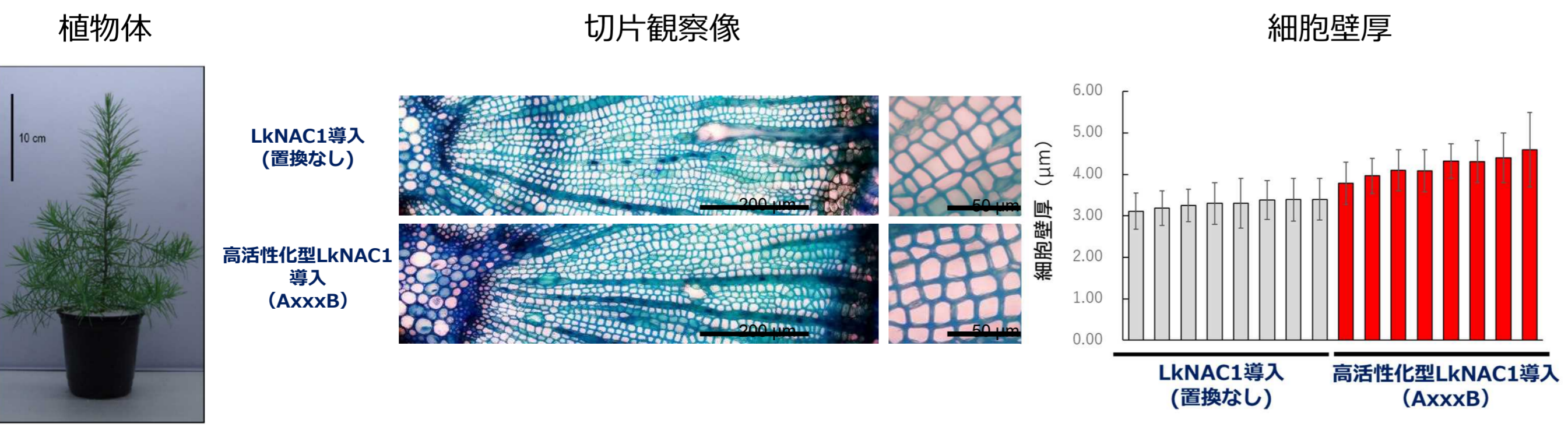
有望変異を持つNST転写因子遺伝子を導入したポプラ



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



有望変異を持つNST転写因子遺伝子を導入したカラマツ



カラマツでのゲノム編集システムの確立

