



## ススキ植物の遺伝子組換え植物体作出にはじめて成功

### 研究成果のポイント

- ・わが国在来植物のススキ属植物は高バイオマス生産が可能で、欧米を中心にエネルギー作物として期待されていますが、今回、世界で最初に遺伝子組換え植物体の作出に成功。
- ・このことにより、分子育種を推進するための基盤技術を確立。

### 研究成果の概要

ススキ属植物は欧米ではミスカンサスと呼ばれており、その高いバイオマス<sup>1</sup>生産や持続的な栽培が可能であることから、最も有望なエネルギー作物の一つとして世界中で注目されています。政府が策定した「バイオ燃料技術革新計画」の2030年までのロードマップには、遺伝子組換えによる革新的エネルギー作物の開発が盛り込まれています。そこで、著者らは、ススキ植物の遺伝子組換え技術の開発を行いました。研究開発のポイントは、全国から収集した豊富なススキ遺伝資源の中に培養特性に優れる系統を見出したこと、ならびに、培養、選抜、再分化の諸条件を最適化したことでもあります。その系統を用いて、パーティクルガン<sup>2</sup>(遺伝子銃)を用いた形質転換<sup>3</sup>法により、ススキの遺伝子組換え植物体の作出を実現しました。

今後、この技術を利用して、細胞壁組成改変(リグニン含量低減)<sup>4</sup>によるバイオエタノール生産のための糖化効率を向上させた植物など、画期的な新品種開発のための育種素材創出が期待できます。この成果は、Global Change Biology Bioenergy 誌に公表されました。

### 論文発表の概要

研究論文名: Establishment of an efficient *in vitro* culture and particle bombardment-mediated transformation systems in *Miscanthus sinensis* Anderss., a potential bioenergy crop (エネルギー作物として期待されるススキにおける効率的な組織培養系とパーティクルガン法による形質転換系技術の確立)

著者: 氏名(所属) Xun Wang・山田哲也・Fan-Jiang Kong・安部由紀・星野洋一郎・金澤章・山田敏彦(北海道大学), 佐藤広子・高溝正(畜産草地研究所)

公表雑誌: Global Change Biology Bioenergy

公表日: 英国時間 2011 年 1 月 31 日 Early View (Articles online in advance of print)

※本研究は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の新エネルギー技術開発/バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発(先導技術開発)事業の一環として実施されました。

## 研究成果の概要

### (背景)

2008年3月に経済産業省と農林水産省が連携して策定した「バイオ燃料技術革新計画」の実現に向け、バイオエタノール製造の増産が可能なセルロース系原料として、ススキ属植物（欧米ではミスカンサスと呼ばれている）は、最も有望なエネルギー作物の一つです。ススキ属植物は、最大バイオマスポテンシャルが50t/ha/年であり、①C4植物<sup>5</sup>で、低温下での高い光合成能、②生育サイクルの永続性、③持続的で効率的な窒素やリンなどの栄養養分循環、④高いエネルギー効率（生産/投入）、⑤地下部への炭素固定などの優れた特性があり、温帯から冷帯の地域、とりわけ寒冷地におけるバイオマス生産には非常に優れ、欧米でもエネルギー作物としての期待度が高いものです。上記計画の2030年までのロードマップとして、遺伝子組換え技術による革新的なエネルギー作物の開発が盛り込まれています。成分改変、とりわけ、細胞壁組成改変（リグニン含量低減）や不良環境での環境ストレス耐性付与などが重要な研究課題として位置づけられています。そのため、ススキ属植物の分子育種技術開発の基盤研究として、効率的な組織培養系とパーティクルガン法による形質転換系技術の確立を検討しました。

### (研究手法)

ススキの効率的な組織培養系技術を確立するために完熟種子を用いて実験を行いました。最適培養条件を検討するとともに全国から収集した豊富なススキ遺伝資源を供試してその培養特性を調査しました。選び出した系統を用いて、パーティクルガンを用いた形質転換法の諸条件や薬剤耐性カルス<sup>6</sup>の選抜条件を検討し、遺伝子組換え体の作出を図りました。

### (研究成果)

ススキの組織培養技術として、完熟種子からカルスを誘導する培地やカルスから植物体へ再分化させる培地における植物ホルモンの組み合わせとその濃度および培養期間などの諸条件について最適化を行いました。

日本各地から収集したススキ遺伝資源を供試して培養特性を調査した結果、培養特性に大きな変異があることを見出しました。その中で、カルス形成率には「種子島」系統が、植物体再分化率については、北海道から収集した「今金」系統が優れていました。

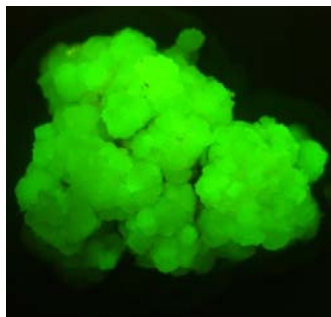
パーティクルガン法による遺伝子導入技術を確立するために、レポーター遺伝子<sup>7</sup>として緑色蛍光タンパク質(GFP)遺伝子を用いて最適な実験諸条件を明らかにしました。GFP遺伝子を撃ち込んだカルスについて、抗生物質ハイグロマイシン<sup>8</sup>による選抜条件の最適化を検討し、GFPの形質転換植物体を作出することができました。PCRおよびRT-PCR法<sup>9</sup>で導入遺伝子の存在と発現を確認してススキの形質転換系技術を確立することができました。

### (今後への期待)

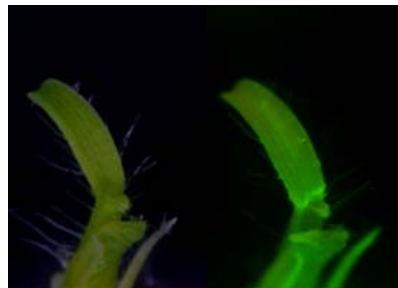
今後、今回開発したススキ植物の遺伝子導入技術を利用して、細胞壁組成改変（リグニン含量低減）による糖化効率向上や環境ストレス耐性を付与したなど画期的な新品種開発のための育種素材創出に期待ができます。遺伝子組換えにより、新規な育種素材が創出できれば、画期的なエネルギー新品種が開発が可能になります。その新品種が普及すれば、持続的に高いバイオマス生産が可能になり、安定した原料の供給ができることから、バイオ燃料製造への貢献は非常に大きいと考えます。

## お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学北方生物圏フィールド科学センター・教授 山田 敏彦（やまだ としひこ）  
TEL: 011-706-3644 FAX: 011-706-3644 E-mail: yamada@fsc.hokudai.ac.jp



GFP 発光している形質転換  
ススキのカルス



GFP 発光している形質転換  
ススキの葉

## 用語の解説

### 1) バイオマス

もともと生物 (bio) の量 (mass) のことですが、今日では、再生可能な、生物由来の有機性エネルギーや資源（化石燃料は除く）を指すことが多い。

### 2) パーティクルガン法

DNA を塗布した金属粒子をガス圧などによって加速し、細胞膜及び細胞壁を貫通させて植物細胞内に撃ち込んで DNA を導入させる方法。

### 3) 形質転換

外部から DNA を導入し、その生物の遺伝的性質を変えること。

### 4) 細胞壁組成改変（リグニン含量低減）

草や木などの植物では、大部分は細胞壁から成り立っていますが、細胞壁はセルロース、ヘミセルロース、リグニンの高分子化合物から構成されています。草や木などのセルロース系材料からバイオエタノールを製造する試みが現在行われていますが、リグニンからは発酵でバイオエタノールが作れないので、その含量を減らすことが目標になっています。

### 5) C4 植物

植物は光合成時の二酸化炭素の取り入れの違いにより、C3、C4、CAM に分けられており、最も CO<sub>2</sub> の吸収能力が高く、特に高温時でも CO<sub>2</sub> を吸収して、成長する植物が C4 植物です。代表的な植物としてトウモロコシやサトウキビなどがあげられます。ただ、多くの C4 植物では、低温や日照不足ではその能力が発揮されないことが多い。

#### 6) カルス

培養されている分化していない状態の植物細胞の塊で、一般にはカルスへ遺伝子導入の操作をした後、茎葉や根などの器官を分化させて植物体に再生することにより、形質転換植物体が得られやすい。

#### 7) レポーター遺伝子

ある遺伝子が発現しているかどうかを容易に判別するための指標とする目的で用いられる遺伝子のこと。生細胞での検出が容易なことから、緑色蛍光タンパク質 (GFP) が有名。

#### 8) ハイグロマイシン

抗生物質の一つであるが、この耐性遺伝子を植物体へ導入することにより、目的の遺伝子を形質転換した植物を選抜することができます。

#### 9) PCR および RT-PCR 法

PCR 法は、ゲノム DNA などをテンプレートにして、増幅したい領域の両端に相補的なプライマーと耐熱性 DNA ポリメラーゼを用いてサイクル反応（プライマーとのアニーリング→伸長反応→二本鎖の解離）を行うことにより、目的とする DNA 領域を増幅する方法です。この方法により、目的の遺伝子がゲノムに導入されているかを確認できます。一方、RT-PCR 法は、細胞や組織から RNA を抽出したあとに、プライマー-DNA、逆転写酵素により first-strand cDNA を合成します。この cDNA をテンプレートにして PCR を行います。この手法により、目的の遺伝子が発現しているかを解析します。