

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 16 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20380138

研究課題名（和文）遺伝子発現解析を利用した環境制御法の開発

研究課題名（英文）Development of Environmental Control Method using Gene Expression Analysis

研究代表者

清水 浩（SHIMIZU HIROSHI）

京都大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：50206207

研究成果の概要（和文）：

本研究では行ったキクとリーフレタスを供試植物とした画像解析と遺伝子発現解析を用いることで、数日おきや収穫時に計測するという一般的な環境変化に対する植物の反応に関するデータ収集方法よりも短期間で環境要因に対する植物の反応を解析することが可能であることを示した。Ls2ox2 遺伝子発現量を制御することで明期のリーフレタス葉伸長成長率を増加させられる可能性があることを示し、本研究の目的であるレタスのジベレリン代謝遺伝子発現解析を利用した光環境制御技術について新しい知見を得ることができた。これにより、遺伝子発現解析を応用した植物成長の計測方法が植物生産効率の向上やそれによる植物工場システムの生産コスト低減に関する研究などに貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：

It was demonstrated that gene expression analysis was useful and less time-consume to evaluate plant response of chrysanthemum and leafy lettuce to environmental factors compared with the conventional and long-term evaluation method that plant growth and response are measured a few times a week. A possible increase of stem growth rate of lettuce was indicated by control the gene expression level of Ls2ox2, and a new knowledge about the photo-environment control technology that used onset of gibberellin metabolism gene analysis of a certain lettuce was obtained.

It is thought that measurement procedure of the plant growth applying gene expression analysis is feasible to improvement of the plant production efficiency and production cost reduction of the plant factory system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2009 年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2010 年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2011 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業環境工学

キーワード：施設園芸・植物工場・環境調節

1. 研究開始当初の背景

本研究は花きのわい化剤代替技術として、遺伝子発現解析データを利用した花きの伸長抑制のための環境調節技術の開発を最終的なゴールとしている。植物が外的な刺激に対して反応するプロセスは刺激を受容体が感知して、関係する遺伝子が発現し、それをもとにホルモンなどのタンパク質が合成され（あるいは合成が阻害され）、最終的に茎伸長（あるいは抑制）などの形態的变化として現われる。植物が刺激を受けて形態的特長量が現われるまでの反応の流れは、植物体内で行なわれる生化学反応であるので、温度などの環境を変化させることによって反応速度を低下させることは可能かもしれない。そこで本研究では、プロセスの初期段階（受容体による刺激の感知から遺伝子発現までの段階）を抑制することで、その後の反応も低減し最終的に茎伸長など形態的变化を抑制するための環境制御技術を構築する。

このような環境調節方法のメリットとしては、刺激の受容から遺伝子発現までの限られた時間だけを集中的に環境調節すればよいので、エネルギー的にもコスト的にも従来の方法（一日中制御する方法）よりも有利となる。

環境調節による植物の草丈調節技術としては、Erwin と Heins が開発した昼夜間温度差（DIF）を利用したものがある。DIF 技術については 1980 年代後半からアメリカでは Heins らミシガン州立大学、ヨーロッパでは Moe らノルウェー農業大学の研究グループが中心となって精力的に進められており、イギリス、スウェーデン、韓国など世界各国でも実施されている。その結果、DIF に反応す

る品目もあるが、全く反応しない品目もあることが確認されており、また植物の DIF 反応に対するメカニズムも明らかとなっていないのが現状である。欧米では DIF 技術は特定品目の植物を対象に現場でも用いられているが、日本では夏季における温室の昼間温度を低減するためのコストがかかるため普及しておらず、有効な手法の開発が望まれている。DIF による環境調節は、昼夜間の温度をそれぞれ同じ温度に維持するというものであるが、そもそもそれぞれ十時間前後も同じ温度に維持しなければ草丈調節に効果がないのであろうか？ 本研究はこのような疑問から植物が外部から刺激を受けてから形態的な特徴としての変化が現われるまでのプロセスのうち、茎伸長に関する酵素の遺伝子レベルでの発現量をもとに環境調節を行なう点が既往の関連研究との大きな違いであり新しいアプローチの研究であると位置づけられる。

2. 研究の目的

本研究では、温度刺激に対する茎伸長に関係するジベレリンを生成する酵素の発現量と茎の伸長成長量の関係、つまり温度刺激から酵素遺伝子の発現が最大になるまでの時間およびその継続時間、発現から形態的特長量の変化が観察されるまでの時間およびその継続時間を定量的に明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では①画像解析による実験②遺伝子発現解析による実験の 2 種類の実験を行い、それぞれの実験の主な目的は、①リーフレタス葉伸長成長におけるジベレリンと光照射

の役割②光環境条件変化・ジベレリン生合成酵素遺伝子発現の変化とキクおよびリーフレタス葉伸長成長率の関係に関するデータを収集することである。以下に各実験の詳細な説明を述べる。画像解析は「ジベレリンと伸長成長の関係」「明期と暗期の伸長成長の違い」「光照射と伸長成長の関係」に関するデータ収集を目的とし、それぞれの目的に対して「12時間周期+ウニコナゾール」「12時間周期・6時間明暗周期」「4時間明暗周期・3時間明暗周期」という実験条件を設定して実験を行った。遺伝子発現解析の目的は「明期と暗期のジベレリン生合成酵素遺伝子発現量の違い」と「光照射とジベレリン生合成酵素遺伝子発現の関係」に関するデータ収集とし、それぞれの目的に対し「12時間周期(4時間ごとに遺伝子発現解析を行う)、6時間明暗周期(1時間ごとに遺伝子発現解析を行う)」、「6・3・1時間明暗周期(それぞれ暗期から明期に変わる時間帯において遺伝子発現解析を行う)」という実験条件を設定した。

4. 研究成果

キクの伸長量に関する実験では、茎伸長にはGAが関与していることが明らかとなった。GA生合成関連酵素の遺伝子発現は、活性型GAによるフィードバックを受けていることを示唆する結果が得られており、光刺激を利用した環境調節法を確立する際には、その点を考慮する必要があると思われる。また、青色・赤色光LEDの下で栽培した場合も、暗黒条件下においたキクに光を照射した場合も、遺伝子発現量に光質の違いによって多少の差はみられたが、実際の茎伸長量の傾向を説明するには十分なものではなかった。

レタスを用いた実験では、画像解析と遺伝子発現解析手法により光照射とリーフレタス葉伸長成長、およびジベレリン生合成酵素遺伝子発現の関係について調べた。画像解析

は大きく「ウニコナゾールを用いた実験」と「様々な明暗周期条件による実験」の2通りの実験を行い、リーフレタス葉伸長成長におけるジベレリンと光照射の役割について調べた。画像解析実験から「ウニコナゾール処理されたリーフレタス葉の伸長成長は抑制されること」と、様々な明暗周期条件により行われた実験から「どの明暗周期条件においても暗期後半の緩やかな伸長成長率の増加と、明期開始90分後に一時的な伸長成長率が増加する」という共通の傾向があることが確認された。これらの結果からリーフレタス葉伸長成長にはジベレリンと光照射が関係していることが明らかになり、光照射によりジベレリン生合成制御が行われていることが示唆された。遺伝子発現解析実験は「ジベレリン生合成酵素遺伝子の経時的発現解析」と「暗期から明期に変わる時間帯に集中した遺伝子発現解析」の2つに分けられ、①明期と暗期のジベレリン生合成酵素遺伝子発現量の違い②光照射とジベレリン生合成遺伝子発現に関するデータ収集を行った。その経時的発現解析結果からは「Ls3h1遺伝子は暗期よりも明期に発現量が増加し、Ls2ox2遺伝子発現量は明期開始2~3時間後に発現量が増加する」ことが、暗期から明期に変わる時間帯に集中した発現解析結果からは「明期開始30分前後にLs3h1遺伝子発現量が急激に増加する」ことが示唆された。これらの遺伝子発現解析結果は、すでに報告されているエンドウの脱黄化に関する研究結果と共通している部分が多いことから、リーフレタスにおいても光とジベレリンが関係した葉伸長成長制御メカニズムが存在していることが考えられた。

以上の結果を総合し、明期における1)光、2)リーフレタス葉の伸長成長、3)ジベレリン生合成酵素遺伝子発現量の変化についてまと

めると、明期直後のリーフレタス葉伸長成長率の増加が Ls3h1 遺伝子発現量の増加により活性型ジベレリン量が増加することで起こることと、その後続く明期では Ls2ox2 による活性型ジベレリンの不活性化による伸長成長率の制御が行われていることが示唆された。

本研究で行ったリーフレタスを供試植物とした画像解析と遺伝子発現解析を用いることで、数日おきや収穫時に計測するという一般的な環境変化に対する植物の成長に関するデータ収集方法よりも短期間でデータ収集を行うことができることを示した。また、Ls2ox2 遺伝子発現量を制御することで明期のリーフレタス葉伸長成長率を増加させられる可能性があることを示し、本研究の目的である新しい作物生産効率向上技術開発の可能性について新しい知見を得ることができた。これにより、本研究で用いた画像解析と遺伝子は発現解析を組み合わせた植物成長の計測方法が植物生産効率の向上やそれによる植物工場システムの生産コスト低減に関する研究などに貢献できると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① Hiroshi Shimizu, Yuta Saito, Hiroshi Nakashima, Juro Miyasaka, Katsuaki Ohdoi, Light Environment Optimization for Lettuce Growth in Plant Factory, Proc. of IFAC 18th World Congress 2011, MoA18, 2011, 1-5.(<http://www.ifac-papersonline.net/Detailed/47675.html>) (査読有り)
- ② 斎藤祐太、清水 浩、中嶋 洋、宮坂寿郎、大土井克明、LED を使用した挿レタス栽培における赤色光をベースとした光質の影響、植物環境工学(24), 2011, 25-30. (査読有り)
- ③ Yuta SAITO, Hiroshi SHIMIZU, Hiroshi NAKASHIMA, Juro

MIYASAKA, Katsuaki OHDOI, The effect of light quality on growth of lettuce, IFAC AgriControl 2011, 1-6. (査読有り)

[学会発表] (計 7 件)

- ① 広木亮佑, 清水 浩・中嶋 洋・宮坂寿郎・大土井克明,リーフレタスの植物工場栽培における最適環境条件に関する研究(農業機械学会関西支部 127 例会, 2012.3.5, 京都市, 京都大学)
- ② 伊藤彩菜, 清水 浩・中嶋 洋・宮坂寿郎・大土井克明・森 浩之・山田 篤, LED による光質がホウレンソウの成長に与える影響(農業機械学会関西支部 127 例会, 2012.3.5, 京都市, 京都大学)
- ③ Hiroshi Shimizu, Light environment optimization for lettuce growth in plant factory (IFAC 18th World Congress, 2011.8.29, ミラノ)
- ④ Yuta Saito, Hiroshi Shimizu, Hiroshi Nakashima, Juro Miyasaka, Katsuaki Ohdoi, Studies on effective light quality for growing lettuce in plant factory (CIOSTA: CIGR V Conference 2011.6.30, ウィーン)
- ⑤ Hiroshi Shimizu, Yuta Saito, Hiroshi Nakashima, Juro Miyasaka, Katsuaki Ohdoi, Optimization of environment factors in plant factory (CIOSTA: CIGR V Conference 2011.6.30, ウィーン)
- ⑥ 小林徳香, 清水 浩, 中嶋 洋, 宮坂寿郎, 大土井克明, 光質が葉菜類の光合成速度に与える影響(農業機械学会関西支部第 125 回例会, 2011.3.2, 堺市, 大阪府立大学)
- ⑦ Yuta SAITO, Hiroshi SHIMIZU, Hiroshi NAKASHIMA, Juro MIYASAKA, Katsuaki OHDOI, The effect of light quality on growth of lettuce (Agriconontrol 2010, IFAC International Conference , 2010.12.7, Kyoto, Kyoto University)

[図書] (計 1 件)

- ① 清水 浩, 遺伝子発現解析を利用した環境調節, 野口 伸, 橋本 康, 村瀬治比古 編著, 養賢堂, 太陽光植物工場の新展開, 2012, 309-320.

[その他]

ホームページ等

http://energy.kais.kyoto-u.ac.jp/lase/index.php/jpn/node_66/node_68/node_92

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水 浩 (SHIMIZU HIROSHI)

京都大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：50206207

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：