

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 23 日現在

機関番号：25406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450519

研究課題名(和文) 竹稈の中実化を制御する栄養生長モデルの確立と応用

研究課題名(英文) Application of cell and tissue culture system for analysis of developmental mechanisms of bamboo clum

研究代表者

荻田 信二郎 (Shinjiro, Ogita)

県立広島大学・生命環境学部・教授

研究者番号：50363875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：タケは一般に竹稈には中空を有しているが、この中空が少ない中実＝肉厚の竹稈を安定的に供給できれば、タケバイオマスの高度利用につながると考えられる。主な研究成果は以下の通りである。

1：中実竹稈の探索を行い、候補品種を見出した。このものの組織形態的特長を解析した。候補品種については細胞・組織培養系を確立できた。2：竹稈の中空の程度を超音波非破壊検査で検出できることを見出し、条件検討を行った。3：候補品種の培養細胞を用いて代謝および遺伝子発現プロファイルの知見を得た。

研究成果の概要(英文)：We investigated the developmental mechanisms of bamboo clum and the results are as follows.

#1; Establishment of cell and tissue culture protocols in several bamboo and sasa species. #2; Histological and histochemical characteristics of several bamboo clums were identified and an efficient ultrasonic testing (UT) method was carried out. #3. Metabolome and transcriptome analysis were carried out by using bamboo cell culture protocols.

研究分野：農学

キーワード：タケ 竹稈 生長解析 細胞組織培養 国際研究者交流 台湾

1. 研究開始当初の背景

タケは单子葉イネ科植物の中で世界最大級、木質に劣らぬセルロース系バイオマスとして有望視されている。一般に竹稈は中空（直径比 40-80%程度）を有しているが、この特性は材積を著しく低下させる、輸送コストを増大させるなど、タケバイオマスの効率的な活用を妨げる主要因となっている。これまでの研究から、申請者は既に日本風土に適応する連軸型バンブーサ属中実稈種を見出している（図1）。このものは、維管束系が稈の中心部にまで広く分布し、同等の直径と比較すると材積が従来の2倍強である。このような竹稈中実化の制御が、タケバイオマスの効率的な利用を促進する重要な鍵であると位置付けた。

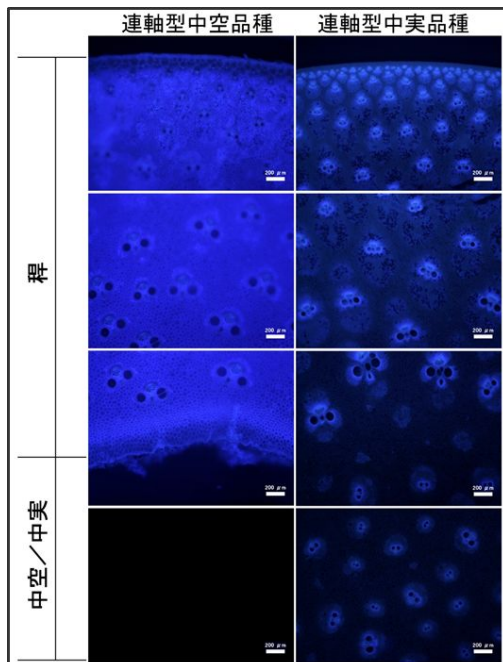


図1 本研究で着目する竹稈の組織構造

2. 研究の目的

本研究では、熱帯性タケ数種で知られている「中実=肉厚または中空がほとんど存在しない竹稈」の成立要因を解明すると共に、その人為的な制御を可能にする手法を開発し、バイオマス高収量タケ品種作出を達成することを目的として、温帯性単軸型のタケが繁殖する日本および熱帯性連軸型のタケが混在する台湾等を対象に、中実竹稈品種の探索、中実化制御を達成するタケの栄養生長モデルの構築、各種オーム解析をはじめとする研究基盤の整備を進める。なお、本研究は、H22~H24年度実施の科学研究費補助金C「マダケ属の栄養生長モデルによる肥大および成熟機構の解明」で蓄積した成果の深化・発展を目指すものである。

3. 研究の方法

中実竹稈品種の探索、中実化制御を達成するタケの栄養生長モデルの構築に関する

方法概要：これまでに見出している中実竹稈であるホウライコマチ（バンブーサ属）において野外サンプリング試料を用いた組織構造解析、温室馴化親株の系統維持、節組織の無菌培養によるクローン増殖、細胞培養系の樹立と増殖や代謝特性の評価が可能となっている（一部の成果は学会発表および論文化済）それらの知見と方法を活用した。なお、竹稈の非破壊検出に関しては、超音波探傷子検出装置を新たに購入して、測定技術の検討を実施した。各種オーム解析に関する方法概要：ハチク細胞 Pn (rpc00047 独自技術による樹立細胞株) 培養系を活用した木化制御に関わるトランスクリプトーム解析については理化学研究所との連携体制で実施した。またイネの緑化（分化）促進転写因子として見出された *OsGLK1* を、同 Pn 細胞にパーティクルガン法で導入した選抜株の増殖や代謝に関わる解析（メタボローム解析を含む）を農業生物資源研究所の協力を得て実施した。

4. 研究成果

香川県、沖縄県、台湾等（位置情報は未発表につき割愛する）で野外調査を実施し、マダケ属、デンドロカラムス属およびバンブーサ属の中実竹稈候補品種を見出した（図2）。



図2 中実竹稈候補品種（上：マダケ属、下：デンドロカラムス属の例）

採取した各竹稈の内外径、節間長等生長パラメータを測定して中実度評価を行い、一般的な中空の竹稈よりも明らかに肉厚であることを再確認した。併せてF A A固定したサンプルより薄切片を作成して成分染色を施し、維管束の形状や分布特性、セルロースや

リグニン等の細胞壁構成成分、デンプンの蓄積パターンなどを指標とした組織構造解析を行った。結果の一部は学会発表等で発表を行ったが（学会発表、 、 ）それぞれのタケについて解析結果詳細のとりまとめは今後も継続していく。

前述の中実竹稈候補個体について温室内に定植したところ、ホウライチク、ホウライコマチ、マダケ変異種、デンドロカラムス属1種については、新たな竹稈の発生を確認した。また、これまで確立している竹枝の節培養技術を応用することによって、各種生長解析に用いるための同候補個体のクローン増殖が可能となった。さらに中実候補竹稈品種を含む10種以上のタケおよびササについて、細胞培養株の樹立を達成した。これら栄養生長モデルについても取りまとめを進めている（学会発表 - ）および（論文 ）なお、本研究で得られた知見の活用事例として同モデルを活用した生長・代謝特性の解析や改良についても順次発表している（学会発表、 、 、 ）および（論文 ）。

中実竹稈の非破壊検査技術として、今回は超音波探傷法による測定を試みた。EPOCH-XT（オリンパス社製）-超音波パルス反射法を用いて、各種中空管状試験片（アルミ材、木材（桜）、竹材）の測定条件を検討した。一振動タイプ（2MHz）および二振動タイプ（5MHz）の探触子（超音波センサ）を用いたところ、直径10-100mmのアルミ材試験片においてはどちらも同程度の精度で測定できた（図3）。一方、木材および竹材では、それぞれの組織構造的な特徴に加えて含水率により測定が難化した。例えば、含水率70%程度では超音波の検出が困難であったが、95%相当に調湿した竹材（外径22.5mm、肉厚6mm）の試験片について二振動タイプセンサの有効性が確認できた。さらに条件を精査し、現在、一振動タイプのセンサ測定も可能となってきている（図4）。これら測定方法については今後も引き続き検討を進めて、野外での測定を順次行っていく計画である。

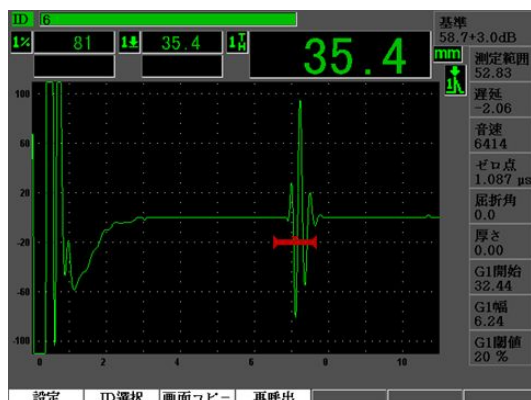


図3 アルミ材試験片での測定波形



図4 タケ試験片における測定波形

各種オーム解析データに関して一部は学会発表（ ）を行っている。しかし、詳細は未発表データも多いことから、本報告書では割愛している。その知見に関しては、可能な限り早い時期に公開するべく準備中である。

また、本研究の実施に関連して台湾およびバングラデシュの研究者と交流を深め、短期招聘を行い、関連成果の学会発表（ - ）も実施できたことは特筆に値する。今後も国際的な共同研究を進めていくことで体制強化を図っていく。

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2件)

Taiji Nomura, Mai Shiozawa, Shinjiro Ogita, Yasuo Kato, Occurrence of hydroxycinnamoylputrescines in xylogenic bamboo suspension cells. *Plant Biotechnology*(2013) 30(5): 447-453 DOI: 10.5511/plantbiotechnology.13.0704a

Shinjiro Ogita, Plant cell, tissue and organ culture: the most flexible foundations for plant metabolic engineering applications. *Natural Product Communications* (2015) 10(5):815-820 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26058164>

〔学会発表〕(計15件)

荻田 信二郎、野村 泰治、加藤 康夫：タケ・ササの組織培養技術：栄養成長モデルとしての活用事例：竹林景観ネットワーク第12回研究集会（千葉）2013.7.7-8

荻田 信二郎、野村 泰治、加藤 康夫：メダケ（*Pleioblastus simonii*）細胞培養系の増殖・分化特性：日本植物細胞分

子生物学会 2013 年度大会 (北海道)
2013.9.10-12
Shinjiro Ogita, Ting-Feng Yeh, Taiji Nomura, Yasuo Kato : Current applications of cell and tissue culture in bamboo resources production and improvement. 日本植物学会 2013 年度大会 (北海道) 2013.9.13-15
荻田 信二郎, ND. Ziaul Karim, 野村 泰治, 加藤 康夫 : タケバイオリソース、マダケ属とデンドロカラムス属カルスの組織化学的特長 : 第 2 回森林遺伝育種学会大会 (東京) 2013.11.8
荻田 信二郎 : タケにおける材質育種の可能性 : 竹林景観ネットワーク第 13 回研究集会 (兵庫) 2013.11.30-12.1
Shinjiro Ogita, Taiji Nomura, Fumiaki Hirose, Hiroaki Ichikawa, Yasuo Kato : OsGLK1 regulates cell differentiation and metabolic functions in bamboo Pn(rpc00047) cells. 日本植物生理学会 2014 年度大会 (富山) 2014.3.18-20
Yasuo Kato, Shinjiro Ogita, Taiji Nomura : 'Rational metabolic-flow switching' for the production of exogenous secondary metabolites in plant suspension cultured cells; a proof-of-concept study using bamboo cells. Gordon conference 2014, USA (2014.7.5-12)
荻田 信二郎 : タケクローン苗による竹稈・地下茎の組織解析 : 竹林景観ネットワーク第 14 回研究集会 (福岡) 2014.7.12-13
荻田 信二郎, 野村 泰治, 加藤 康夫, 笹本 浜子 : 環境適応性の異なるタケ亜科数種の懸濁細胞株の樹立と特性評価 : 第 32 回日本植物細胞分子生物学会大会 (岩手) 2014.8.21-22
荻田 信二郎, 緒方 友哉, 野村 泰治, 加藤 康夫 : 中実化を伴う竹稈発生様式の組織形態的特徴 : 日本植物学会第 78 回大会 (神奈川) 2014.9.12-14
Taiji Nomura, Shinjiro Ogita, Yasuo Kato : 'Rational metabolic-flow switching' for the production of exogenous secondary metabolites in plant suspension cultured cells; a proof-of-concept study using bamboo cells. Active Enzyme Molecule 2014, Toyama, Japan (2014.12.17-19)
荻田 信二郎 : 中実性を示すマダケ属竹稈の特徴 : 竹林景観ネットワーク第 15 回研究集会 (静岡) 2014.12.27-28
荻田 信二郎, 野村 泰治, 廣瀬 文昭, 市川 裕章, 加藤 康夫 : OsGLK1 を導入したタケ Pn 培養細胞のメタボローム解析 : 第 56 回日本植物生理学会大会 (東京) 2015.3.16-18
Shinjiro Ogita, Taiji Nomura, Yasuo

Kato : Morphological and histochemical characteristics of thick-walled solid culms in Bambusa bamboo. International Symposium on Wood Science and Technology 2015, Japan (2015.3.15-17)
荻田 信二郎, 笹本 浜子 : プロトプラスト共培養と画像解析によるタケのアレロパシーバイオアッセイ : 第 33 回日本植物細胞分子生物学会大会 (東京) 2015.8.10-12

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]
ホームページ等
<http://www.pu-hiroshima.ac.jp/~ogita/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荻田 信二郎 (OGITA, Shinjiro)
県立広島大学・生命環境学部・教授
研究者番号 : 50363875

(2) 研究分担者

加藤 康夫 (KATO, Yasuo)
富山県立大学・工学部・教授
研究者番号 : 20254237

(3) 研究分担者

野村 泰治 (NOMURA, Taiji)
富山県立大学・工学部・講師
研究者番号 : 40570924

(4) 連携研究者

持田 恵一 (MOCHIDA, Keiichi)
理化学研究所・バイオマス工学研究プログラム・上級研究員
研究者番号 : 90387960

(5) 連携研究者

市川 裕章 (CHIKAWA, Hiroaki)
農業生物資源研究所・植物科学研究領域・上級研究員
研究者番号 : 30355755