

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26660278

研究課題名(和文) 易糖化特性を有するイネの開発

研究課題名(英文) Developing rice with increased saccharification efficiency

研究代表者

平野 恒 (Hirano, Ko)

名古屋大学・生物機能開発利用研究センター・特任助教

研究者番号：10456618

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：イネ変異体の中から、易糖化イネ108および122系統を選抜した。108変異体ではフラボノイド合成酵素遺伝子に、122変異体では光形態形成を制御するCOP1遺伝子に変異が生じており、これらの遺伝子が壊れることで易糖化に至ることが判明した。また両変異体の細胞壁成分を分析したところ、108ではリグニンおよびリグニン構成成分であるシリングル・リグニンの減少、122ではヘミセルロース画分中のフェルラ酸が減少していた。両変異体は子実収量こそ元品種に比べ減少したものの、茎葉部のバイオマス量は元品種と同程度であり、リグノセルロース利用に適したイネであると考えられた。

研究成果の概要(英文)： In this study, I aimed to identify new molecular factors that influence saccharification efficiency (SE) in rice. By screening 215 rice mutants, I identified two lines, 122 and 108, with improved SE. Reduced xylan and ferulic acid within the cell wall of line 122 were probable reasons of improved SE. Line 108 showed reduced levels of thioglycolic-released lignin; however, the amount of Klason lignin was comparable to the wild-type, indicating that structural changes had occurred in the 108 lignin polymer which resulted in improved SE. Positional cloning revealed that the genes responsible for improved SE in 122 and 108 were rice CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1 (OsCOP1) and GOLD HULL AND INTERNODE 1 (GH1), respectively, which have not been previously reported to influence SE. The screening of mutants for improved SE is an efficient approach to identify novel genes that affect SE, which is relevant in the development of crops as biofuel sources.

研究分野：植物分子育種

キーワード：イネ 細胞壁 糖化性 キシロース セルロース リグニン

## 1. 研究開始当初の背景

植物のセルロース系バイオマス(CB)をバイオ化学品(Bio chemical; BioC)に転換して利用する場合、BioC 生産にかかるコストおよび生産過程で投入するエネルギー量を現状よりも大幅に削減する必要がある。

循環型の低炭素社会に向けた取り組みとして、植物のバイオマス利用に向けた開発は世界各国が取り組んでおりバイオエタノールを含めた BioC 生産としてサトウキビ搾汁液(蔗糖)やトウモロコシ子実(デンプン)が利用されているが、BioC 生産を飛躍的に増加させるためには植物バイオマスの 60%以上を占めるセルロース系バイオマス(CB)の利用が必須である。しかし、CB からの BioC 生産は、コストの面から実用化レベルでの利用には至っていない。また、CO<sub>2</sub> 削減効果という観点からも、CB からグルコース変換に要する投入エネルギー量を削減しない限りバイオマス利用によるメリットはない。上記の課題克服に向けて、工学的アプローチによる技術開発が進められているが、CB を提供する植物側の改良はほとんど手つかずの状況であった。

## 2. 研究の目的

本課題は、イネ科作物のモデルであるイネを用いて、容易に CB の糖化(易糖化)を可能とするイネの開発を行ない、植物を BioC 生産用に改良する分子育種をおこなうことを目的とした。具体的には、CB の生産材料として多く用いられるイネ科のモデル植物であるイネを材料とし、セルロースからグルコースへと変換し易い(易糖化)変異体の探索、その原因遺伝子の同定・機能解析とともに、最新情報生物学の手法を用いて易糖化の機構を解明する。イネで得られた成果はイネ科エネルギー作物一般(例えばソルガム・スイッチグラス・ススキ等)に応用する事が可能であり、本課題の目的である CB の工業利用への基盤技術となる。

## 3. 研究の方法

名古屋大学が保有する数千系統のイネ変異体の中から、細胞壁に異常をきたしたイネに多くみられる形質を有する変異体を 215 系統選抜した。細胞壁変異体に注目した理由は、これまで報告されている多くの易糖化植物が細胞壁変異体であるためである。選抜した 215 系統に関して糖化性評価を行ない、易糖化変異体を選抜した。その後、易糖化変異体の細胞壁成分分析・原因遺伝子の単離・農業形質などを解析することで、易糖化に至る原因を探った。また共発現解析法によりイネの二次細胞壁形成に関わる遺伝子の網羅的同定を試みた。手法としてはイネの全遺伝子の発現パターンを類似したもの同士にグループ分けし、細胞壁合成に関わることが知られている遺伝子と似た発現パターンを示す遺伝子群を特定した。それらの内、9つの遺伝子に関してイネ体内で過剰に生産あるいは発現量を低下させ、細胞壁変異体に共通して観察される形質を示すか確認した。

## 4. 研究成果

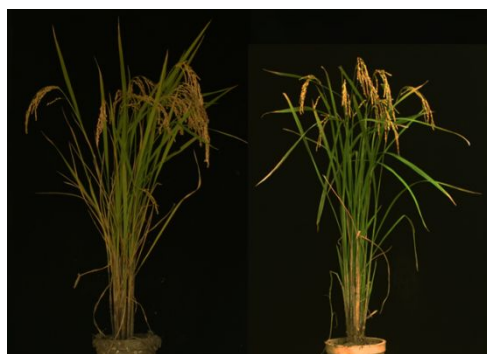
### (1) 易糖化変異体の選抜

易糖化系統を選抜する目的でイネ変異体 215 系統の糖化性評価を行なったところ、元品種に比べ糖化性に違いのある変異体 122 および 108 系統が得られた。108 は糖化効率が元品種である日本晴に比べ 35%、122 は台中 65 号に比べ 44%向上していた。

### (2) 易糖化イネの細胞壁分析

108、122 における易糖化の原因を探るため、それらの細胞壁成分を分析した。108 系統ではセルロースやキシラン量は元品種と同程度であったが、リグニン量が元品種に比べおよそ半分に低下していた。一方、易糖化 122 に関しては、セルロースやリグニン量は元品種と違いがなかったのに対して、キシロース量が元品種の 2 割程度減少することとヘミ

セルロース画分中のフェルラ酸の減少が認められた。おそらく両変異体とも細胞壁成分中の組成が変化し、セルロース分解酵素がセルロースへとアクセスしやすくなったことが易糖化の原因と考えられた。



日本晴

108

糖化効率 35%↑



台中65号

122

糖化効率 44%↑

### (3) 易糖化イネ変異体の原因遺伝子の単離

108, 122 変異体の原因遺伝子を特定したところ、108 変異体ではフラボノイド合成酵素遺伝子 (chalcone isomerase(GH1)) に、122 変異体では光形態形成を制御する COP1 遺伝子に変異が生じており、これらの遺伝子が壊れることで易糖化に至ることが判明した。108 変異体に GH1 遺伝子を、122 に COP1 遺伝子を導入した形質転換イネを作出したところ、両系統の糖化率は元品種と同程度回復したため、GH1 および COP1 変異が易糖化の原因であることを確認した。

### (4) 108, 122 の農業的形質の調査

両系統ともに子実収量は元品種に比べ大

きく減少していたが、子実を除いた地上部バイオマス量は元品種と同程度であり、108, 122 は子実を用いない CB からの BioC 生産の育種素材として利用できる可能性が考えられた。また耐倒伏性に関して調査したところ、両系統ともになびき型に対する耐倒伏性が向上していた。挫折型耐倒伏性に関しては、122 が元品種に比べ低下しており、108 に関しては元品種と同等もしくは向上していた。

### (5) 共発現解析から見出された細胞壁関連遺伝子の機能解析

イネの二次細胞壁形成時に転写する遺伝子群を共発現ネットワーク解析により探索した。それらの内、lipocalin を含む9つの遺伝子に関して過剰発現・発現抑制させたイネを作出したところ、細胞壁に変化を起こしたイネに共通して観察される矮化・濃緑形質がすべての植物において認められた。以上のことから作成したネットワークは正確であり、細胞壁形成に関わる遺伝子群を特定することに成功したと考えられた。

### 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4件)

(1) Hirano K, Ordonio RL, Matsuoka M. Engineering the lodging resistance mechanism of post-Green Revolution rice to meet future demands. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. **93**: 220-233. Review. (2017). doi: 10.2183/pjab.93.014. 査読有

(2) Hirano K, Masuda R, Takase W, Morinaka Y, Kawamura M, Takeuchi Y, Takagi H, Yaegashi H, Natsume S, Terauchi R, Kotake T, Matsushita Y, Sazuka T. Screening of rice mutants with improved saccharification efficiency results in the identification of CONSTITUTIVE

PHOTOMORPHOGENIC 1 and GOLD HULL AND INTERNODE 1. *Planta*. (2017.3). doi: 10.1007/s00425-017-2685-9. 査読有

(3) Petti C, Hirano K, Stork J, DeBolt S. Mapping of a cellulose-deficient mutant named *dwarf1-1* in *Sorghum bicolor* to the green revolution gene *gibberellin20-oxidase* reveals a positive regulatory association between gibberellin and Cellulose Biosynthesis. *Plant Physiology* **169**:705-716. (2015.9). doi: 10.1104/pp.15.00928. 査読有

(4) Yano K, Aya K, Hirano K, Ordonio RL, Ueguchi-Tanaka M, Matsuoka M. Comprehensive gene expression analysis of rice aleurone cells: probing the existence of an alternative gibberellin receptor. *Plant Physiology* **167**:531-544. (2015.2). doi: 10.1104/pp.114.247940. 査読有

〔学会発表〕(計2件)

(1) 田副雄士、牧野周、佐塚隆志、平野恒、北野英己、池内雅裕、遠藤剛、齊藤知恵子、福田裕穂. 高バイオマスソルガム F1 系統の光合成特性とバイオマス増産の解析. 日本植物生理学会第 56 回年会. 2015 年 3 月 16 日 東京農業大学「東京都・世田谷区」

(2) 川口秀夫、寺村浩、中村聡子、荻野千秋、原清敬、蓮沼誠久、老沼研一、高谷直樹、平野恒、佐塚隆志、北野英己、近藤昭彦. バイオマス糖化液由来成分が大腸菌のフェニル乳酸発酵に与える影響. 第 66 回日本生物工学会大会. 2014 年 9 月 11 日 札幌コンベンションセンター 「北海道・札幌市」

〔その他〕

新聞発表

(1) 読売新聞 2014 年 8 月 25 日掲載 「ラボ通信：超多収イネ 開発を」

(2) 中日新聞 2014 年 7 月 3 日掲載 「茎強く多収穫イネ」

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平野 恒 (HIRANO, Ko)

名古屋大学・生物機能開発利用研究センタ

ー・研究員

研究者番号：10456618