

## 難培養植物の形質転換系及びゲノム編集系の開発

### Development of transformation and genome editing systems for recalcitrant plants

七里 吉彦

森林研究・整備機構 森林総合研究所森林バイオ研究センター

1984年にアグロバクテリウムを利用した植物の形質転換技術が発表されて以来、本技術は基礎研究と共に育種に利用されてきた。1996年から本格的な商業栽培が始まった遺伝子組換え作物は、現在我々の生活に不可欠なものとなっている。さらに、革新的なゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 システムの登場により、植物形質転換技術の重要性はこれまで以上に高まっている。しかし、シロイヌナズナなどのモデル植物を除くと、形質転換は多くの植物種において未だ困難であるのが現状である。そのような状況を打破するため、様々な「ひと工夫」を積み重ねることで、社会的に重要な植物における形質転換技術、およびゲノム編集技術を開発してきた。

#### 1. カボチャ (*Cucurbita moschata*)・キュウリ (*Cucumis sativus*)

カボチャやキュウリは、土壌に混在する残留性有機汚染物質 (POPs) を土壌から特異的に吸収する性質があり、POPs 分解遺伝子を導入することでオンサイトでの POPs 吸収・分解植物の創出が可能となる。そこで、カボチャとキュウリについて効率よい形質転換系を構築した (引用文献 1-3)。キーポイントとなったのは、アグロバクテリウムとの共存培養時に過剰な菌増殖を防ぐ「ろ紙培地」の利用と、感染時にアグロバクテリウムを組織深部の細胞にまで送達するための「致傷処理」および「減圧処理」であった (図)。カボチャについては POPs 分解遺伝子を導入した形質転換毛状根を作出し、POPs の一種である  $\gamma$ -ヘキサクロロシクロヘキサンの迅速分解にも成功した (引用文献 4)。また、改良したキュウリ形質転換系は病害抵抗性キュウリの作出に貢献した (引用文献 5)。

#### 2. ジャトロファ (*Jatropha curcas*)

ジャトロファは熱帯・亜熱帯地方に分布するトウダイグサ科の落葉性低木である。種子から高品質の油脂が採取できるため、バイオ燃料植物としての利用が期待されている。上記ろ紙培地と感染時の減圧処理により、最大 23%の割合で形質転換システムを作出することに成功した (引用文献 6)。本成果はジャーナルハイライトに選ばれ、紹介を受けている (<https://www.sivb.org/InVitroReport/issue-49-4-october-december-2015/journal-highlights-2/>)。

#### 3. スギ (*Cryptomeria japonica*)

スギは主要な造林樹種のひとつであり、日本の国土全体の 12%をスギが占めている。一方で、その花粉が原因の花粉症が大きな問題となっており、その対策とし

て無花粉スギ系統の開発・普及が強く求められている。そこで、CRISPR/Cas9 システムによるスギのゲノム編集を試みた。遺伝子組換え手法の改良、および CRISPR/Cas9 遺伝子発現ベクターの最適化により、針葉樹において世界初のゲノム編集に成功し、林木における新しい育種技術の応用への道を切り拓いた(引用文献 7, 8)。

本研究の実施にあたり、多くの方々からご指導やご支援を賜りました。この場を借りて感謝申し上げます。また、本奨励賞にご推薦いただきました東洋大学 田部 井豊先生に厚く御礼申し上げます。

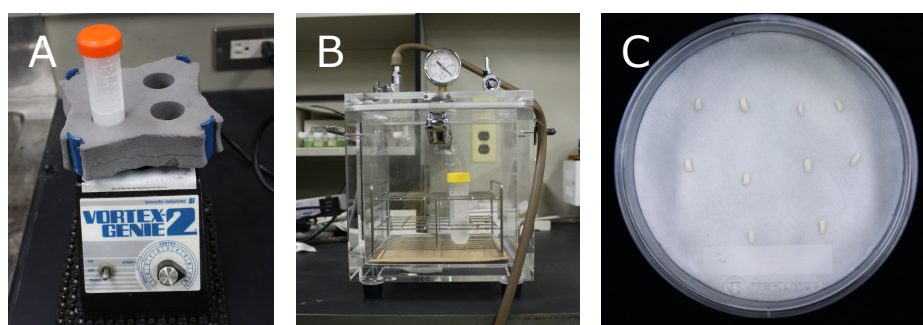


図 難培養植物の形質転換に効果的な「ひと工夫」

(A) 致傷処理の一例。針状結晶の懸濁液に外植体を浸しボルテックス処理をする。これにより外植体を適度に傷つけ、アグロバクテリウムの感染効率を向上させる。超音波処理や金属製のブラシによる致傷処理も報告されている。(B) 減圧処理。アグロバクテリウム懸濁液に外植体を加え、真空デシケーター内で一定時間減圧処理をする。外植体の傷口からアグロバクテリウムが組織深部に効率的に送達される。その際には通気孔付きのチューブを用いることで、コンタミのリスク無しに外植体の減圧処理が可能となる。(C) ろ紙培地。共存培養時に、寒天培地ではなく培地成分を少量(約 5 mL)含むろ紙上に外植体を静置する。共存培養中のアグロバクテリウムの過剰な増殖を防ぎ、形質転換効率を向上させる。写真は引用文献 3 より一部改変。

#### 引用文献

1. Nanasato et al. (2011) *Plant Cell Rep*, **30**, 1455-1464
2. Nanasato et al. (2013) *Plant Biotechnol Rep*, **7**, 267-276
3. Nanasato et al. (2020) *Plant Biotechnol*, **37**, 141-146
4. Nanasato et al. (2016) *Plant Cell Rep*, **35**, 1963-1974
5. Narusaka et al. (2013) *PLOS ONE*, **8**, e55954
6. Nanasato et al. (2015) *In Vitro Cell Dev Biol-Plant*, **51**, 399-406
7. Konagaya et al. (2020) *Plant Biotechnol*, **37**, 147-156
8. Nanasato et al. (2021) *Sci Rep*, **11**, 16186