



遺伝子組換えススキ

山田 敏彦

北方生物圏フィールド科学センター
北海道大学

自己紹介

- 農林水産省東北農業試験場研究員
- 山梨県酪農試験場研究管理幹
- 農林水産省北海道農業試験場研究室長
- 組織の変更に伴い、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター研究室長
- 北海道大学北方生物圏フィールド科学センター
生物生産研究農場長、教授

牧草やバイオマス資源作物の品種改良の研究に従事



シロクローバ(しろつめくさ)



ペレニアルライグラス(ほそむぎ)



オーチャードグラス(かもがや)



ミスカンサス(すすき)

大学へ来てから

外来牧草から在来野草への研究転換

北海道の代表的牧草 — 明治時代に導入された外来種



チモシー
(おおあわがえり)



オーチャードグラス
(かもがや)



ペレニアルライグラス
(ほそむぎ)

外来生物法の「要注意外来生物リスト」に含まれる

イネ科在来野草 シバとススキ



日本シバ
Zoysia japonica



ススキ
Miscanthus sinensis

日本では森林が極相



区分	気候帯	火入れ, 採草	放牧
A □	亜寒帯	ササ型, イワノガリヤス型	ナガハグサ型, ウシノケグサ型
B ■	冷温帯	ススキ型, ササ型	シバ型
C ■	暖温帯	ススキ・アズマネザサ型(東部), ススキ・ネザサ型(西部)	ネザサ型, シバ型
D ■	亜熱帯	トキワススキ型, ネザサ型	コウライシバ型, ギョウギシバ型

図II-20 気候および人為的攪乱(火入れ, 採草および放牧)と日本の半自然草地植生との関係(沼田 真, 1969; 大久保忠旦, 1990を改変)



火入れ



放牧



刈取り

ススキ半自然草地は
人為的攪乱(火入れ、
刈取り、放牧)で維持、
攪乱がなければ森林へ。

写真は阿蘇周辺

シバの品種改良

アメリカ農務省(USDA)は、戦前から日本、中国などでシバ遺伝資源の収集を行い、戦後本格的に育種が開始した。その結果、優れた品種(Meyer, Emeraldなど)が育成された。その後も遺伝資源の収集を継続し、数多くの品種を育成した。現在、アメリカの寒地と暖地の中間地帯のゴルフ場などで栽培されている。

なお、アメリカで育成された品種が日本へ逆輸入されている。

日本でもアメリカに遅れたが、20年ほど前からシバの品種育成が開始された。

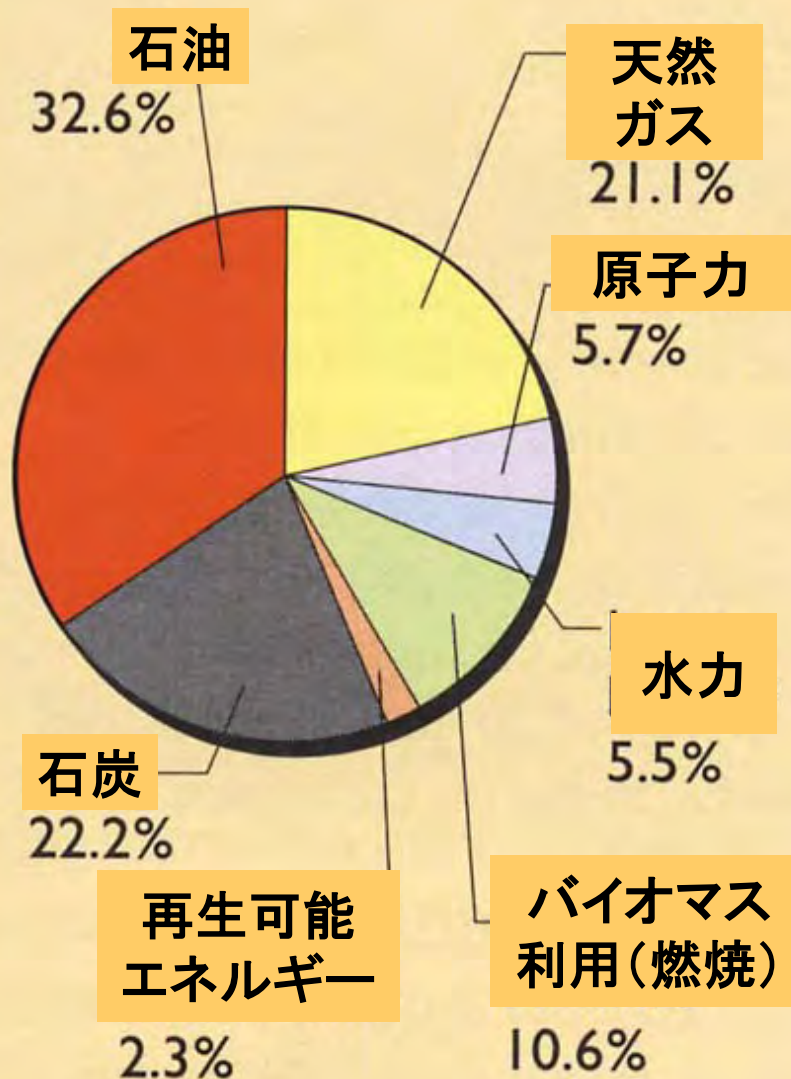


バイオマス循環に基づいた 持続再生可能な社会



世界のエネルギー消費量に占める それぞれのエネルギー源の割合

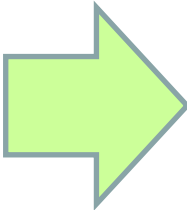
2002年
のデータ



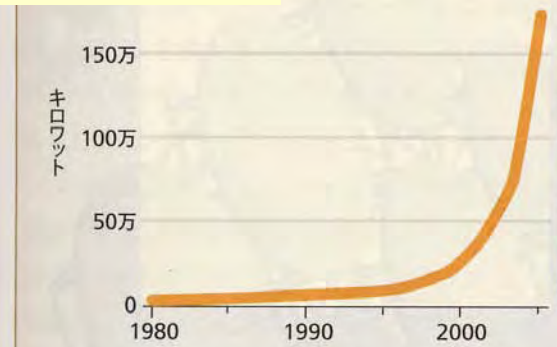
from G. Boyle 2004

Renewable energy 再生可能エネルギー

石油、石炭
原子力

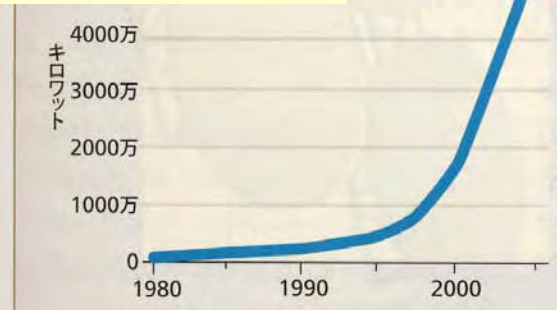


太陽電池

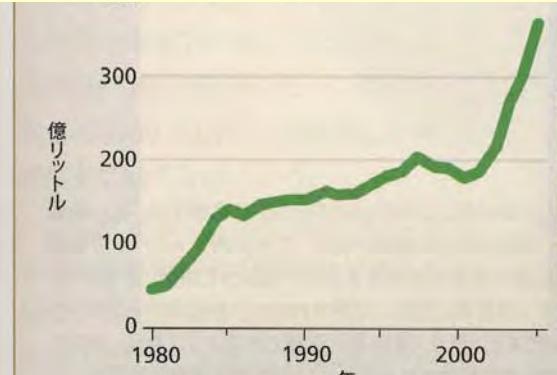


風力発電の設備能力

風力発電



資源作物からエタノール





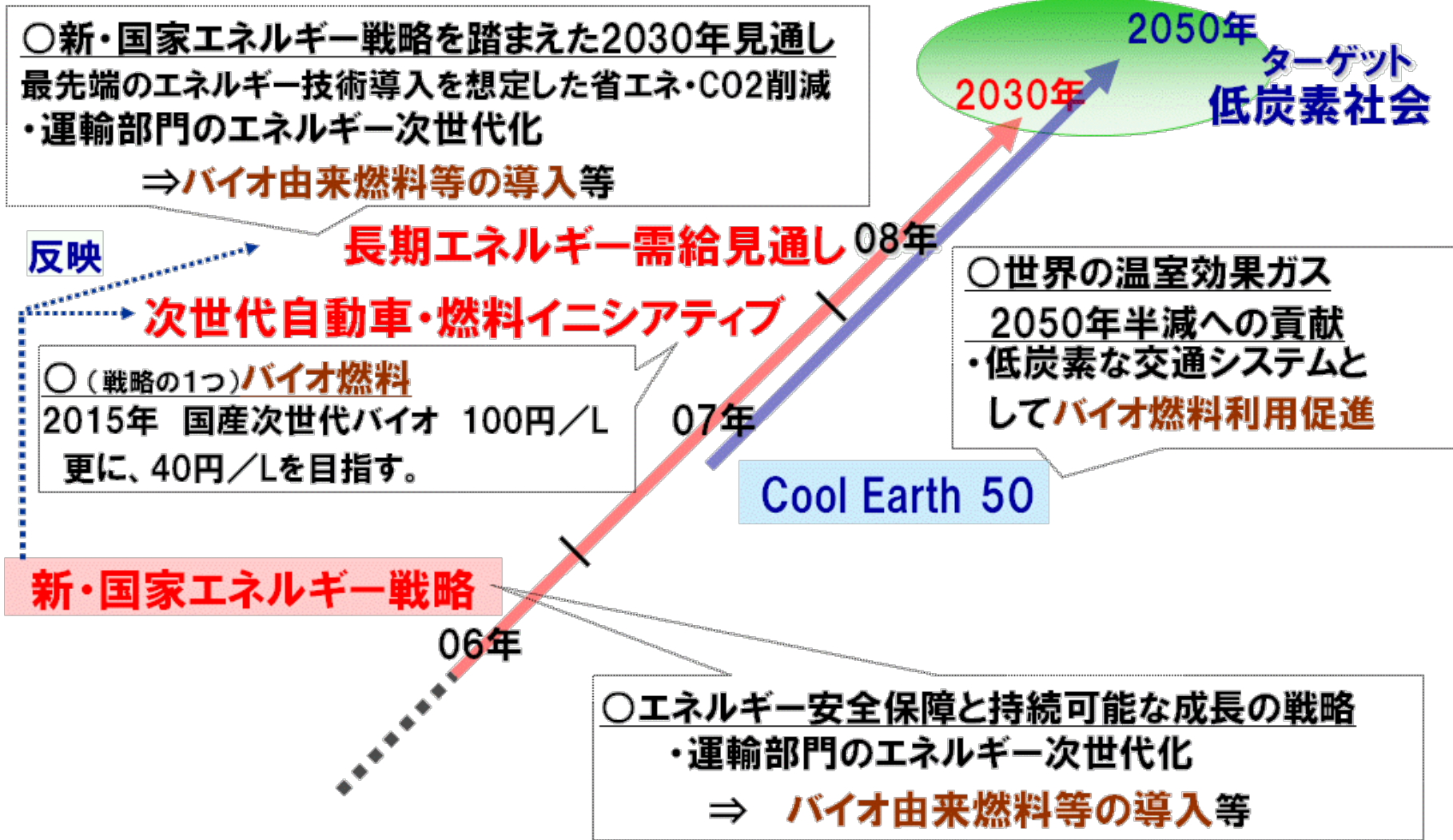
菜の花プロジェクトネットワーク

菜の花を植え、食用油として使用した後に、
その廃食油からのBDF生産

－ 資源循環サイクル －



輸送用燃料におけるバイオ燃料の政策



デンプン質原料作物



トウモロコシ



ソルガム



コムギ



イネ



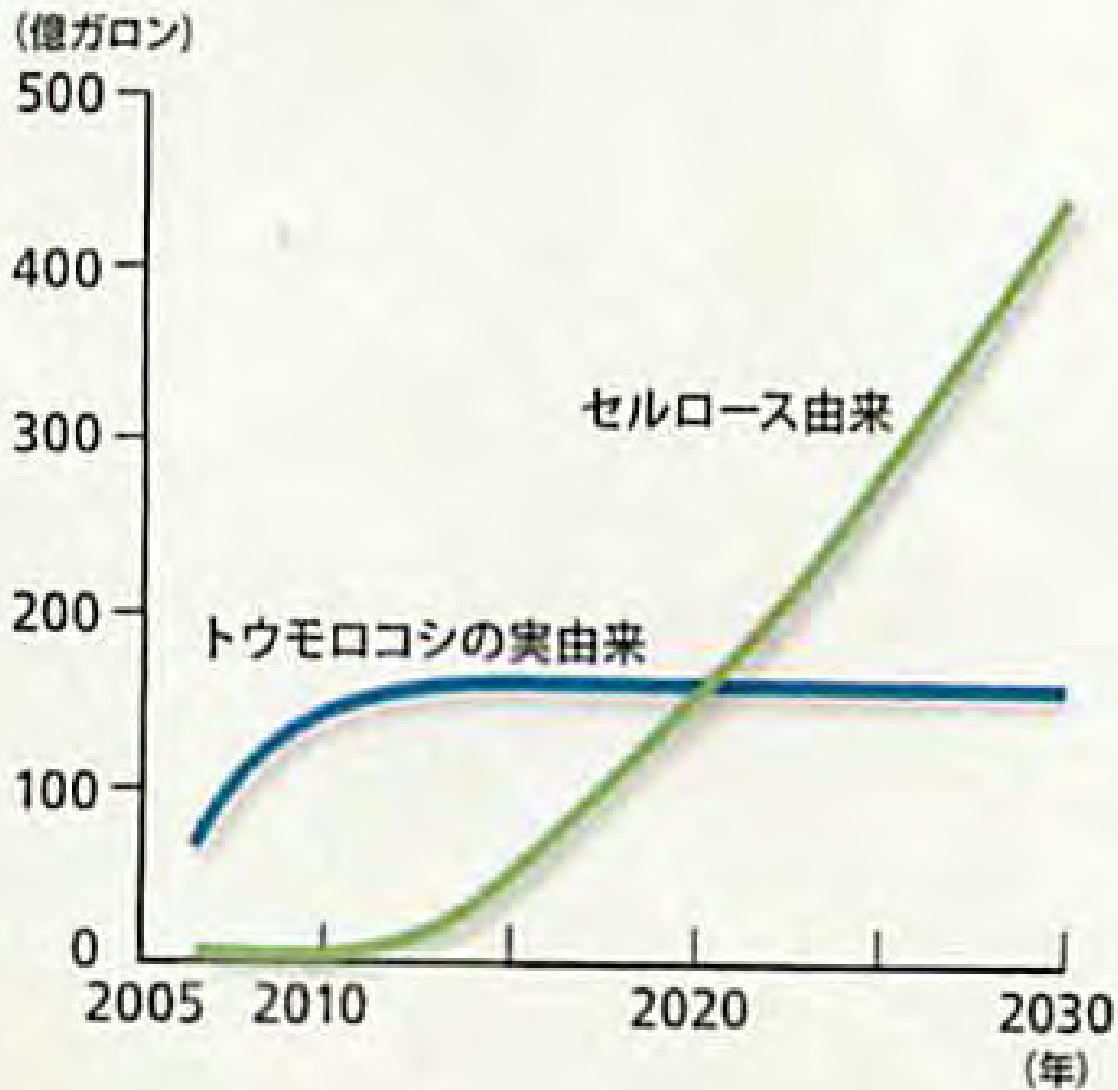
キャッサバ

人の食料
家畜飼料
バイオエタノール



日本のバイオエタノールプロジェクト

米国のエタノール生産量



セルロースの構造

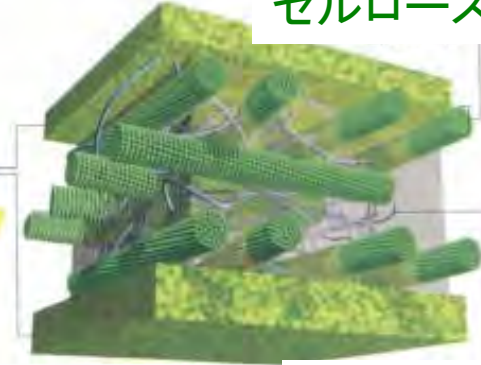
自然界では、セルロースは植物の鉛直方向の生育を支えている。結晶分子構造をなし、堅牢で分解されにくい。このため植物は丈夫だが、バイオ燃料への変換は難しい。

セルロース

細胞内 長いセルロース繊維は、高層建築を支える鉄骨のように植物の細胞に一定の立体構造を与える。セルロース繊維は、ヘミセルロースとリグニン(図では省略)の“縄”で互いに結びつけられている。セルロースに閉じ込められた化学エネルギーを利用するには、リグニンやヘミセルロースのマトリックス構造を、熱や酸、塩基で解きほくさなければならない。

長い結晶 セルロースは構成単位のグルコースが互いに強固に結合し、結晶構造をなしている。構造が安定しているため、グルコースへの分解は困難だ。

細胞壁

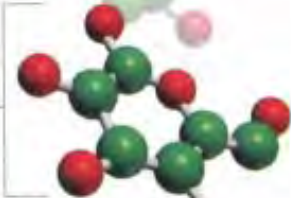


ヘミセルロース



分子構造 セルロースは数千のグルコースが数珠つなぎになったものだ。セルロースの化学エネルギーはこの糖に蓄えられている。

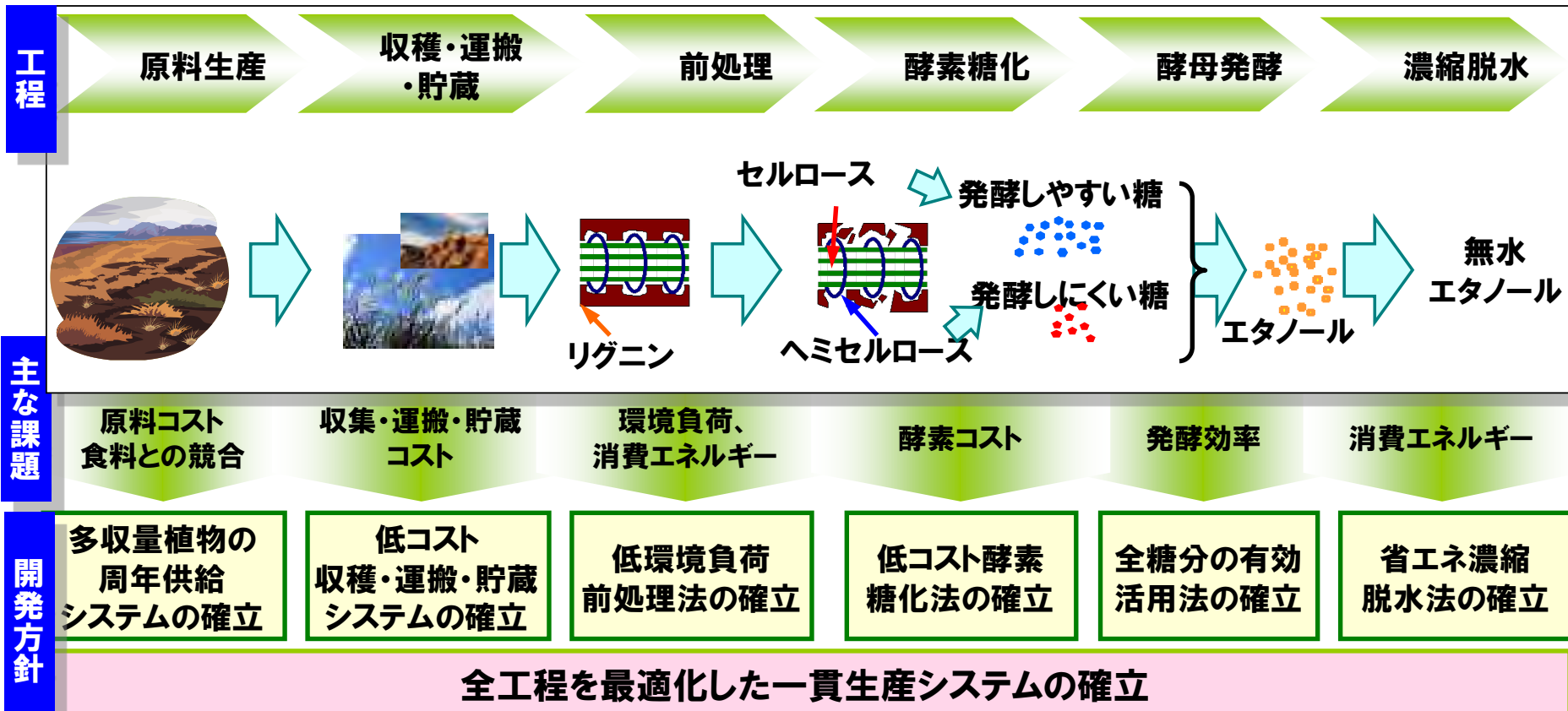
グルコース



原料 スイッチグラスは有望な原料の1つで、カナダからメキシコまでの広い地域に生育し、従来の農業に向かない砂質土壌でも栽培可能だ。さらに、必要な水や肥料も少ない。

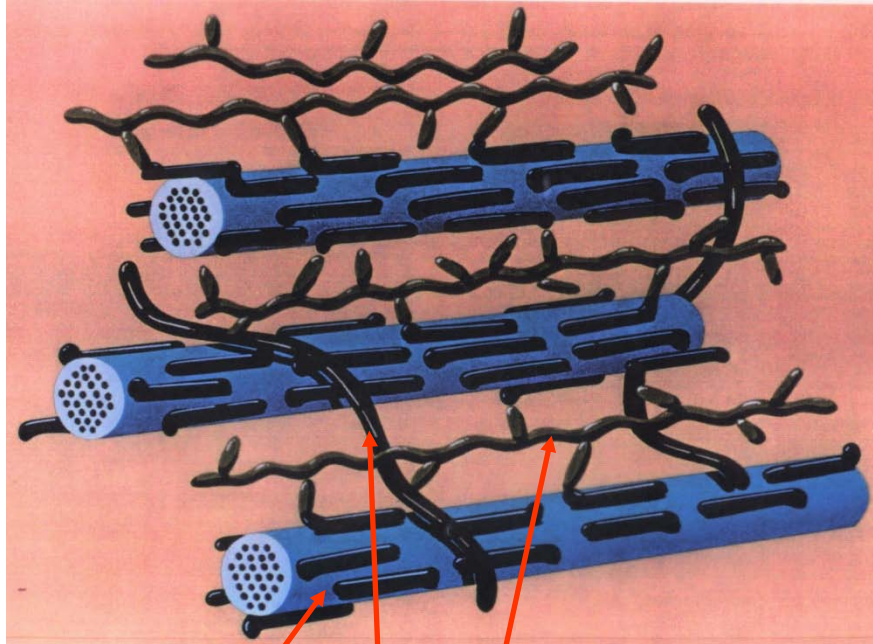
バイオエタノールの一貫生産システム

★相互に影響しあう6つの工程の連携を最適化し、原料生産からエタノール製造までの個別技術開発に基づく一貫生産システムを開発する。



独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の事業

バイオマスがエネルギーリッチな有機物質から構成されている



植物バイオマスは、大部分は細胞壁であり、高分子有機物から構成されている

草類は木質より細胞壁構成物質が違って、複雑である。

- セルロース (38-50%)
- ヘミセルロース (23-32%)
- (ペクチン)
- リグニン (15-25%)
- タンパク
- 可溶性物質
- 灰分

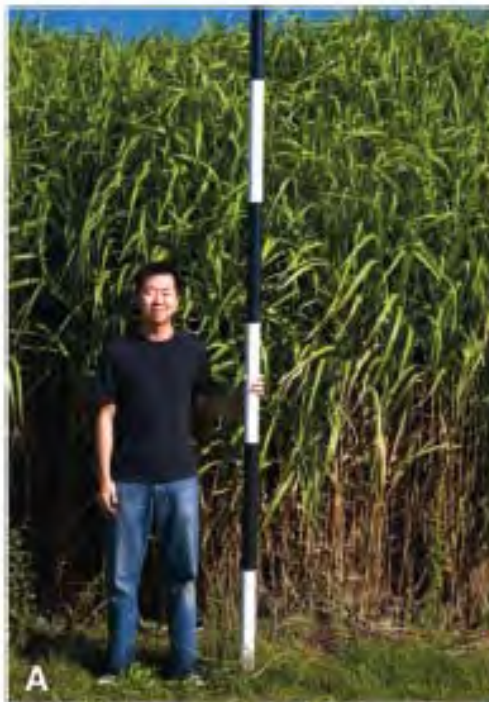
セルロース

ヘミセルロース

リグニン

資源作物	バイオマス 量 (t/ha/年)	エタノール 生産量 (L/ha)	生育に必要な水 (cm/年)	干ばつ 耐性	生育に必要な窒素量 (kg/ha/年)
トウモロコシ		3,800(計)	50-80	低	90-120
実	7	2,900			
茎・葉	3	900			
サトウキビ	80	9,950(計)	150-250	中	0-100
糖	11	6,900			
バガス	10	3,000			
ススキ	15-40	4,600-12,400	75-120	低	0-15
ポプラ	5-11	1,500-3,400	70-105	中	0-50
<i>Agave</i>	10-34	3,000-10,500	30-80	高	0-12

Somerville et al. (2010) Science 329: 790-792

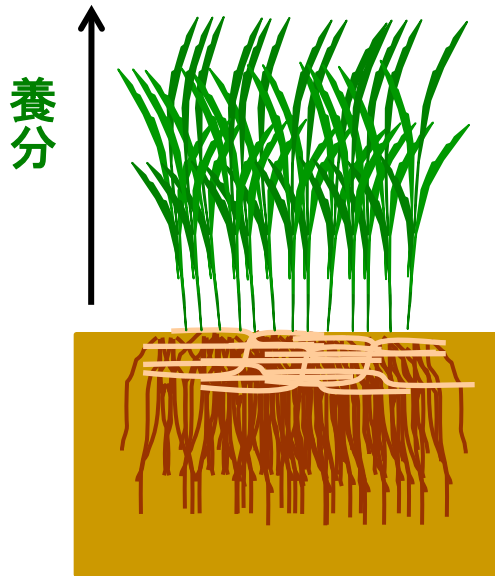


多年生草類のバイオマス生産利点

- ✓低い栄養養分要求性
- ✓不良土壌での比較的高い収量性
- ✓永続性
- ✓土壌への炭素固定
- ✓自然生態系との共生

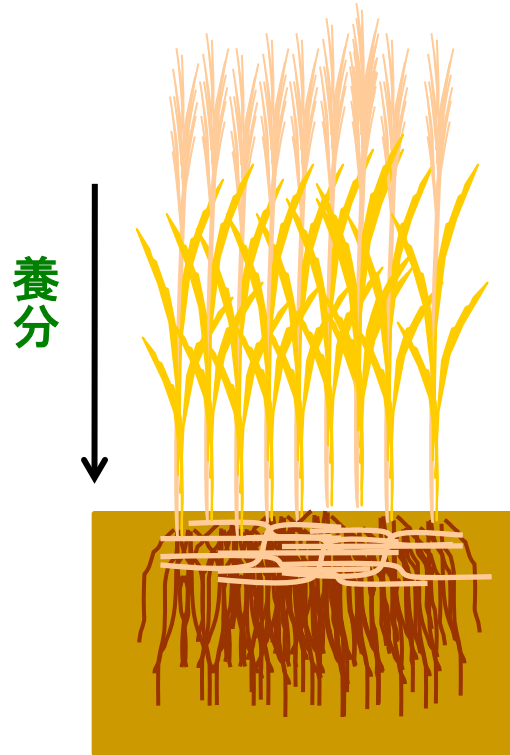
多年生草類の効率的な栄養養分使用の概念

春～夏



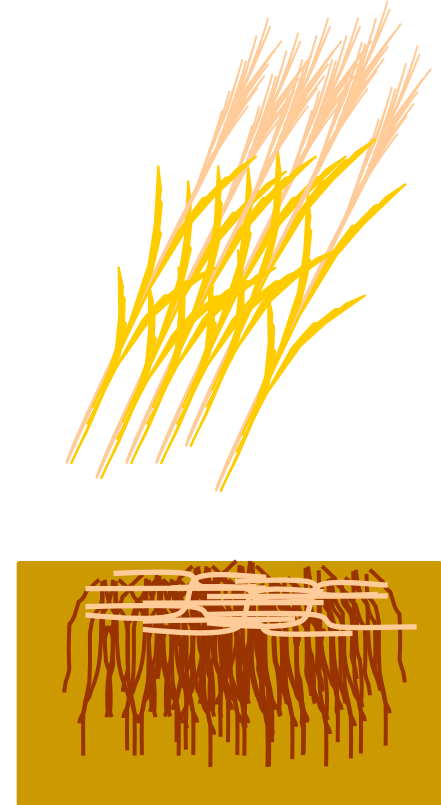
地上部へ生育
のための
栄養養分転流

秋



地上部枯上
がりに伴う
地下部への
栄養養分転流

冬



地下部に栄養養
分貯蔵、
地上部刈取り

(From DOE)

Miscanthus spp. はバイオマス資源植物として有望である。



ススキの利用

- 伝統的な建築資材
- 家畜飼料
- 肥料として堆肥の原料
- 観光資源



日本の代表的なススキ草地



阿蘇(熊本県)



曾爾(奈良県)



川渡(宮城県)



菅平(長野県)



ススキ



オギ

ススキ属植物の地理的分布
 (Clifton-Brown et al. 2008)



Miscanthus x giganteus (ジャイアント ミスカンサス)

三倍体雑種:

二倍体ススキ (*M. sinensis*)
($2n=38$) x 四倍体オギ (*M. sacchariflorus*) ($2n=76$)

デンマークの植物収集家が
1935年に日本からデンマー
クに園芸用品種として導入。
第一オイルショック以後資源
作物として高いバイオマス生
産が注目されている。

Miscanthus sinensis

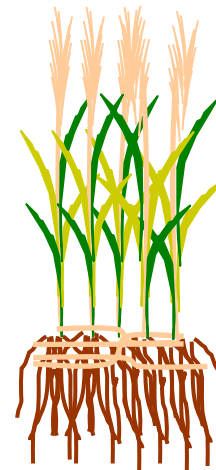
Miscanthus sacchariflorus

ススキ

オギ

$2n=38$ (二倍体)

$2n=4x=76$ (四倍体)



交配
×

高いシュート密度
(コンパクト)

永続性
(地下茎)

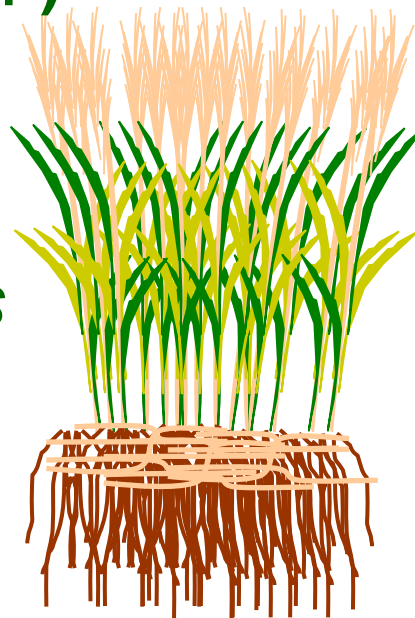


三倍体

($3n=57$)

M. x giganteus

雑種強勢
高密度植生
不稔



高いバイオマス生産
(30-45 t/ha/yr)



ススキ属植物のメリット

- ✓ C4 光合成
- ✓ 低温での高い光合成能力
- ✓ 高いエネルギー効率 (生産/投入) 22-50
- ✓ 永続性

ジャイアントミスカンサスのデメリット(現時点)

- ✓ 三倍体不稔性雑種の圃場造成へのコスト高
- ✓ 狭い遺伝的背景
- ✓ 耐寒性に劣る、特に造成年における最初の冬

ススキ遺伝資源の収集



ススキ遺伝資源の評価

北大2008年10月18日



「バイオ燃料技術革新計画」

(経済産業省と農水省、2008年3月策定)

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る。

一例

リグニン生合成の抑制 → 糖化効率の向上
干ばつ、低温耐性など → 栽培限界地や荒廃地での栽培

3. 技術革新ケース 40円/L (原料技術ロードマップ)

ベンチマーク: 草本 50乾燥トン/ha・年、木質 17乾燥トン/ha・年
年産10万~20万kL規模

2008

2015

バイオマス原料用植物の選抜・育成

多収量植物の選抜・育成

利用可能な多収量植物の選抜・実証

- ・イネ科植物(多収): エリアンサス、ミスキカンサスなど
- ・マメ科植物(窒素固定能、多収)
- ・早生樹: ヤナギ、ポプラ、ユーカリ、アカシアなど

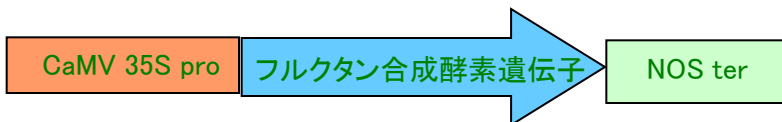
形質転換系の確立

(遺伝子組み換え技術などによる低コスト多収エネルギー作物の開発)

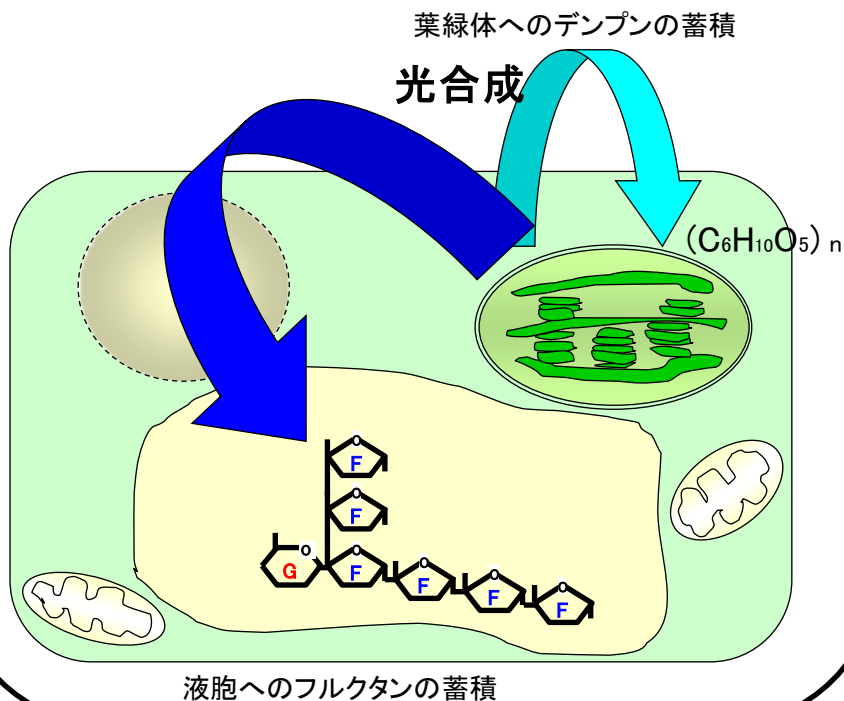
遺伝子組換え技術による新規なミスカンサス育種素材の創出 NEDOプロジェクト

遺伝子組換え技術による成分含量の改変(炭水化物含量の増加、リグニン含量の減少)

フルクタン合成酵素遺伝子の導入



フルクタン合成能をもつスキの創出
(炭水化物含量の増加、リグニン含量減少)

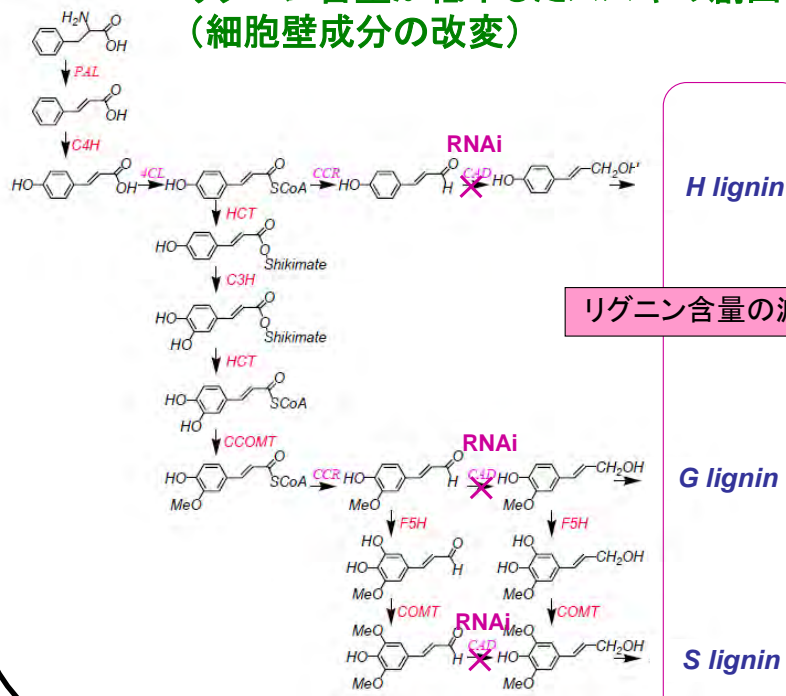


RNAiによるリグニン合成酵素遺伝子の発現抑制

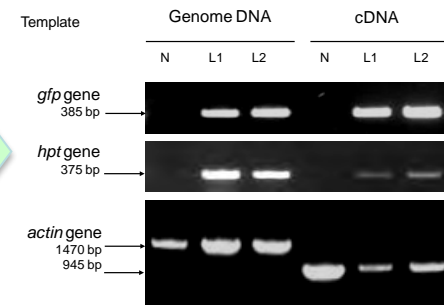
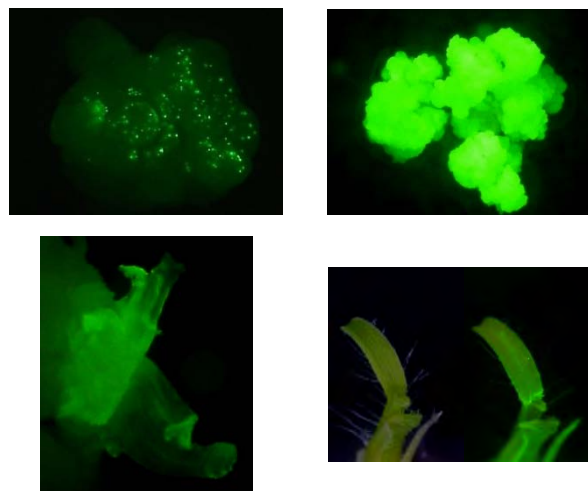


リグニン合成酵素遺伝子(CAD, COMT)の部分配列

リグニン含量が低下したスキの創出
(細胞壁成分の改変)



ミスカンサス(ススキ)における遺伝子組換え技術



再分化可能なススキカルス培養系
・ススキ系統「今金」
・培地等の最適化

パーティクルガン装置

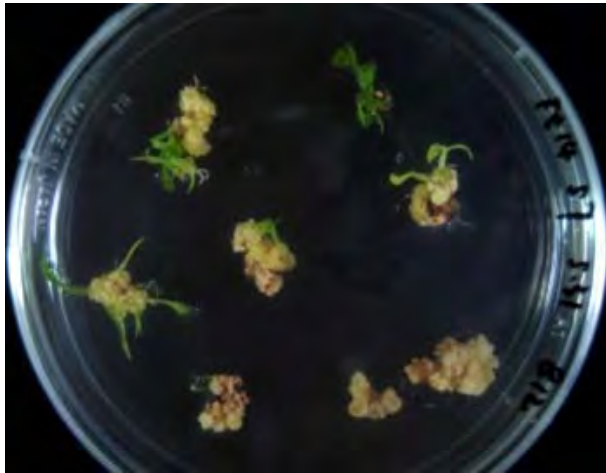
GFP遺伝子導入と形質転換ミスカンサス植物体の作出

GFP遺伝子導入と発現の確認

ススキカルス組織を用いてパーティクルガン法により遺伝子組換え技術を確立できた。申請者が知る限り、世界で最初の技術開発である。

北海道大学プレスリリース2011年2月10日

フルクタン合成酵素遺伝子を導入したススキの創出



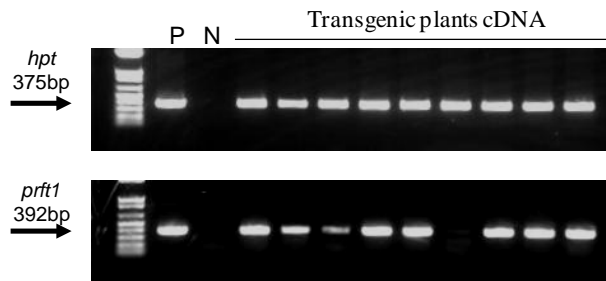
ハイグロマイシンを含む再分化用
選抜培地で形成されたシュート



ハイグロマイシンを含む培地
で生育中の形質転換植物



作出した6-SFT形質転換ススキ植物体



6-SFT遺伝子発現の確認



- 6-SFT遺伝子、6G-FFT遺伝子を導入したススキ組換え個体の作出に成功。
- 1-SST遺伝子については、作出中。

フルクタン合成酵素遺伝子を導入した 組換えススキ植物の特性

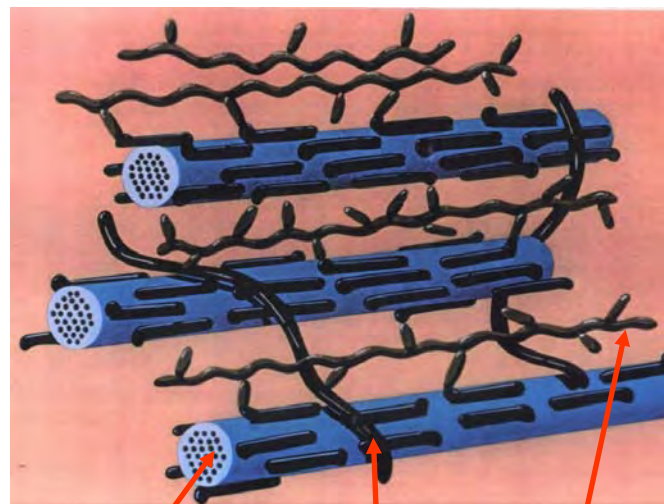
低温条件の環境において、6-SFT組換え植物体が、対照植物体より生育量が旺盛で耐寒性が向上し、糖組成に違いがあることを見出している。



対照植物

6-SFT形質転換
植物体

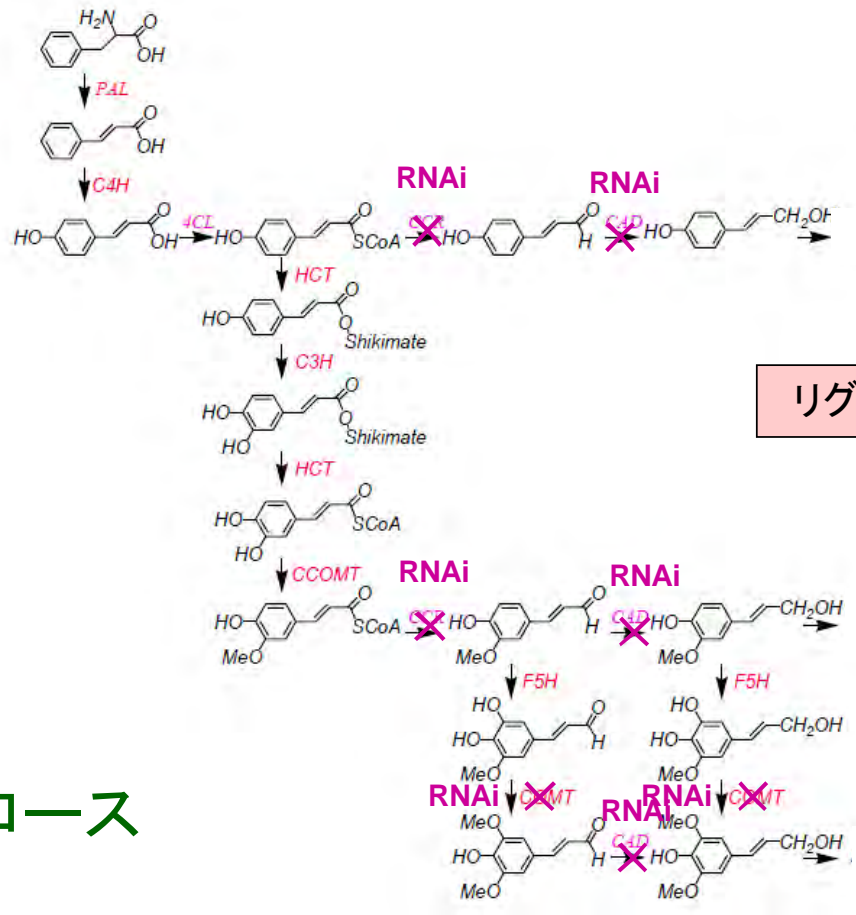
リグニンはエタノール変換効率を下げる



セルロース

ヘミセルロース

リグニン



H lignin

リグニン含量の減少

G lignin

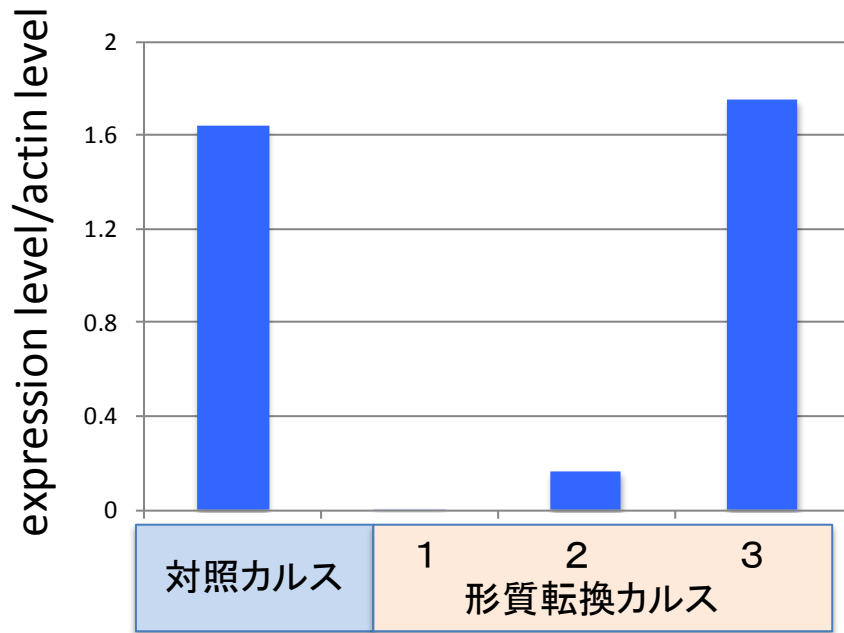
S lignin

リグニン合成酵素遺伝子の発現抑制の遺伝操作

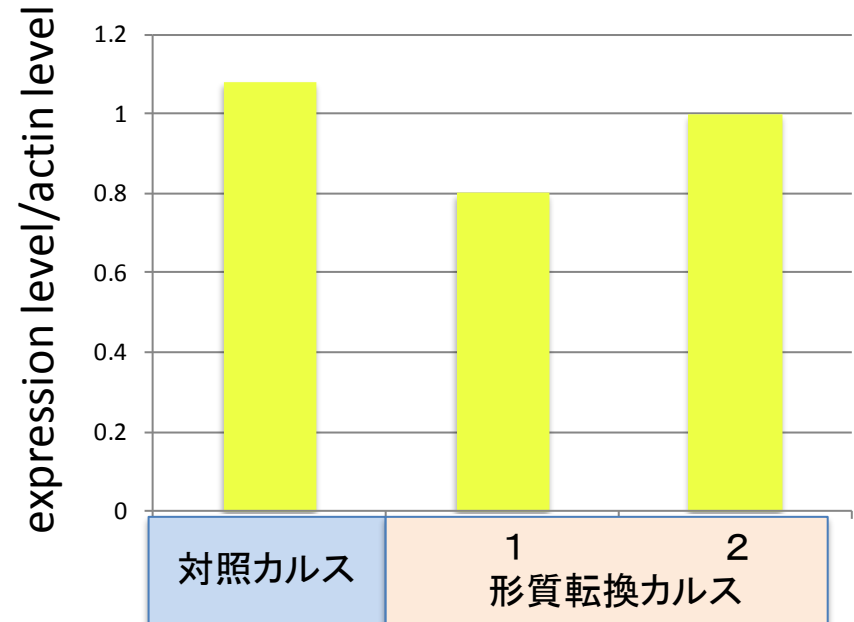
RNAi技術によるリグニン合成酵素遺伝子の発現抑制

カルス組織でリグニン合成酵素遺伝子の発現抑制の検証

コヒー酸 O-メチル転移酵素 (COMT) 遺伝子の発現量



シンナミルCoA還元酵素 (CCR) 遺伝子の発現量



組換えカルスにおけるリグニン合成酵素遺伝子の抑制

組換えススキ

$2n=38$ (二倍体)



交配
×



非組換えオギ

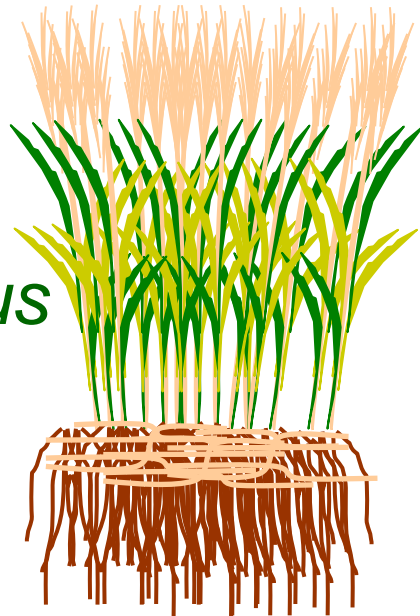
$2n=4x=76$ (四倍体)



三倍体

($3n=57$)

M. x giganteus



不稔で花粉を飛散しない
株で増殖

組換えミスカンサス・ビジネスモデル

「拠点集中型」大量エタノール生産

北米、中国での大規模栽培

現在、アメリカの会社と交渉中です。

私の夢です！

「地域分散型」小規模エタノール生産

北海道

バイオエタノール以外の用途

- 直接燃焼（石炭混焼）
- ペレット燃料
- ガス化



生態系へのリスク

現在の問題：外国産在来種の日本への導入
緑化用として、中国産ススキの利用

- 北大開発中のススキ品種（従来育種法、近日品種登録予定）は本州遺伝資源から選抜されているので、北海道の在来ススキと交雑は避ける必要がある。幸い、開花期が違う。
- 不稔性組換え品種の普及については、非組換え品種が実用化された後に検討していく課題である。