

# バイオ燃料植物ジャトロファの組織培養法の開発

大阪大学大学院工学研究科  
国際環境生物工学(住友電工グループ社会貢献基金)寄附講座  
特任准教授

土本 卓  
福井 希一

生命先端工学専攻 教授

## 1. はじめに

国際環境生物工学(住友電工グループ社会貢献基金)寄附講座は2008年より始まり現在で3期目を迎える。住友電気工業株式会社(1期目)および住友電工グループ社会貢献基金(2~3期目)の寄附による、地球環境への貢献を目指した研究室である。開始時より同社と共同研究を行いながら、温室効果ガス低減に寄与する、半乾燥地での栽培に適したバイオ燃料植物ジャトロファ(*Jatropha curcas* L.; ヤトロファ、ナンヨウアブラギリとも呼ばれる)を中心に研究を続けてきた。これまでジャトロファのゲノム配列決定<sup>1)</sup>、組織培養を利用した形質転換法の開発<sup>2)</sup>、乾燥耐性形質転換体の作製<sup>3)</sup>、DNAマーカーを用いた起源地の特定、収量と結びついた有用DNAマーカーの同定、非破壊油脂解析法の開発、などの研究を行ってきたが、本稿では、それらの成果の中から2015年7月に登録された、住友電気工業株式会社との共願特許「組織培養法」(特許番号 第5785378号)<sup>4)</sup>につき、紹介したい。これはジャトロファ植物体の細胞からカルスを経て、高い頻度で植物体への再分化・再生を可能にする方法についての特許であり、現在本寄附講座が行っているジャトロファ形質転換法の基本となる技術である。

## 2. ジャトロファとは

ジャトロファは中南米原産の灌木であり、全世界の熱帯および亜熱帯で広く栽培されている(図1)。その起源地は本寄附講座の研究などによって、メキシコ南部のグアテマラ国境近くであることがわかりつつある。大航海時代にアメリカ大陸から大西洋上アフリカ沖のカーボヴェルデ諸島にポルトガル人によって運び出されたと言われており、そこから広くアフリカ、アジアの熱帯および亜熱帯地方に広まって、18世紀には東南アジア東端のフィリピンにまで到達している。古くから垣根、薬用、あるいは石けんの原料等として利用されてきたが、最近になって、種子に30-60%の割合でバイオディーゼル燃料や航空燃料に適した非食用油を蓄

積することからバイオ燃料を生産する工業作物として注目されるようになった。植物を原料とするバイオ燃料は、大気中の二酸化炭素を炭素源とするカーボンニュートラルな石油代替燃料として有望なものであるが、以前より食糧生産と競合することが問題となってきた。ジャトロファは、食用作物の栽培に不適な半乾燥地でも生育可能であるため、食糧生産と競合しない次世代の燃料作物として大きな期待を持たれている。しかし、ジャトロファは最適栽培条件下ではヘクタール当たり3.5トンの種子生産が可能であることが示されているものの、上述のような半乾燥地での生産量は必ずしも十分ではない。そこで、乾燥等のストレスを受けても生産量が維持できるような、ストレス耐性を強化した品種の開発が必要とされている。



図1 ジャトロファ植物体とその果実

## 3. 組織培養法

本寄附講座では、形質転換によるジャトロファの改良を行なうため、そのために必要なジャトロファの細胞から組織培養によって効率よく植物体を再生する方法を開発し、「組織培養法」として特許を取得した<sup>4)</sup>。この発明は少ない種類の植物成長調整物質の使用によりジャトロファ属植物のカルスから植物体への再分化、再生を行なうことを特

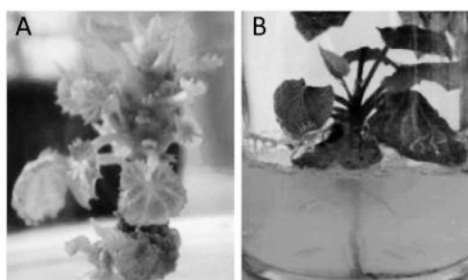


図2 ジャトロファの組織培養。  
(A) シュートの伸長、(B) 発根した植物体。

徴としている。

この方法は3つの工程に分かれている。第一は子葉などの植物片を標準的な植物培地である Murashige and Skoog 寒天培地 (MS 培地) に2種類の植物成長物質 IBA (indole-3-butyric acid) と BA (benzyladenine) を加えて培養する工程であり、植物組織のカルス化と、そのカルスからのシュート(茎と葉)の再分化が起こる。第二は、そのシュートを生じたカルスを植物成長物質として BA のみを含む MS 培地に移植して培養する工程であり、前工程で生じたシュートの伸長が起こる (図2A)。そして第三は半分の濃度の MS 培地 (1/2 MS 培地) に IBA のみを加えたものにシュート部分のみを移植する工程であり、シュートから根が生じて植物体が再生する (図2B)。これら3つの工程を行なうことにより、IBA と BA の2種類の植物成長物質のみの使用でありながら、高い形成頻度 (78%) で植物体を再生することを可能にした<sup>2)</sup>。

この発明はさらに、用いるジャトロファ細胞が、植物の形質転換に用いるアグロバクテリウム菌に感染させた細胞である場合を含んでおり、アグロバクテリウム法による形質転換を視野に入れたものとなっている。本寄附講座では現在この発明を基本として、さらに改良を加えた方法で形質転換ジャトロファの作製を行なっている。次項でその一部を紹介したい。

#### 4. 形質転換ジャトロファ作製への応用

ジャトロファの乾燥耐性を向上させるため、コエンザイム A の生合成系酵素 phosphopantetheine adenylyltransferase をコードする遺伝子 *PPAT*、または乾燥応答遺伝子系を制御する転写因子 nuclear factor Y のβサブユニットをコードする遺伝子 *NF-YB*、をそれぞれ植物体内で構成的に強発現する CaMV 35S プロモーターの下流に融合させた DNA を構築し、カナマイシン耐性遺伝子を持つベクターに組み込んだ。そして、そのベクターを持つアグロバクテリウムを感染させることでジャトロファの子葉細胞を形質転換し、本発明の方法を用いてカナマイシン耐性の

植物体を再分化させた (図3)。その結果、それぞれの遺伝子が導入された形質転換体を複数系統得ることに成功した<sup>3)</sup>。得られた形質転換ジャトロファは寒天培地から鉢に移して環境に馴らし(馴化)、挿し木によって個体数を増やしたのち、鳥取大学乾燥地研究センターの砂漠シミュレーターおよびフィリピン大学ロスバニョス校の隔離温室で乾燥耐性試験を行なっている。現在のところ、どちらの種類も形質転換体においても良好な結果が得られている。

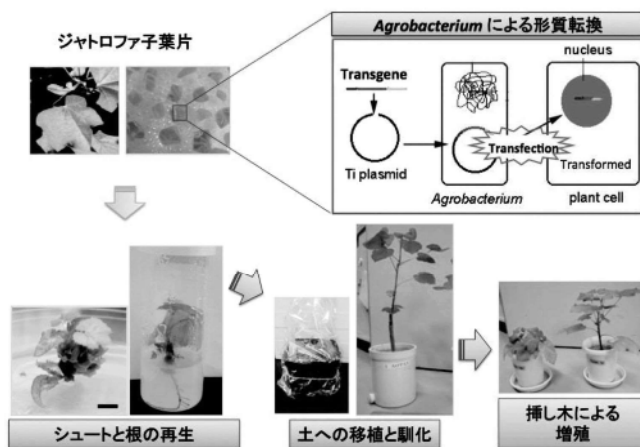


図3 形質転換ジャトロファ作製の概念図

#### 5. おわりに

現在、乾燥耐性を向上させたジャトロファの実証試験と実用化、および本組織培養法の他種植物、特にジャトロファと同じく乾燥地に適している木本の油料作物であるホホバ、への応用に向けて研究を進めている。なおホホバはジャトロファと異なり雌雄異株の植物であり、種子からではなく栄養増殖で苗を供給する必要があるため、組織培養による優良雌株の増殖が急務となっている。そのため、増殖効率のアップに重点を置いた研究を行なっている。

ここに紹介した発明および結果は、柴垣奈佳子准教授、Joyce Cartagena 助教、酒井啓江助教、和田直樹助教、Naruemon Khemkladngoen 研究員、小日向務研究員、学生を含む、本寄附講座の過去及び現在のメンバーの研究成果である。最後に本寄附講座に対する住友電工グループ社会貢献基金と住友電工株式会社の変わらないご支援とご協力に深く感謝申し上げたい。

- 1) S. Sato, H. Hirakawa, S. Isobe, E. Fukai, A. Watanabe, M. Kato, K. Kawashima, C. Minami, A. Muraki, N. Nakazaki, C. Takahashi, S. Nakayama, Y. Kishida, M. Kohara, M. Yamada, H. Tsuruoka, S. Sasamoto, S. Tabata, T. Aizu, A. Toyoda, T. Shin-i, Y. Minakuchi, Y. Kohara, A.

- Fujiyama, S. Tsuchimoto, S. Kajiyama, E. Maki-gano, N. Ohmido, N. Shibagaki, J.A. Cartagena, N. Wada, T. Kohinata, A. Atefeh, S. Yuasa, S. Matsunaga and K. Fukui. *DNA Res.* 18, 65 (2011).
- 2) N. Khemkladngoen, J. Cartagena, N. Shibagaki, and K. Fukui. *J. Biosci. Bioeng.* 111, 67 (2011).
- 3) S. Tsuchimoto, J. Cartagena, N. Khemkladngoen, S. Singkaravanit, T. Kohinata, N. Wada, H. Sakai, Y. Morishita, H. Suzuki, D. Shibata, and K. Fukui. *Plant Biotechnology* 29, 137 (2012).
- 4) ジョイスカルタヘナ、柴垣奈佳子、ナルモンケムクラーゲン、福井希一、池口直樹、登録番号 5785378.