

大阪公立大学 農学部

応用生物科学科

Department of Agricultural Biology

研究シーズ集

Research Seeds 2023





INDEX

マメ科緑肥作物のリレー混作導入による減肥効果	1
植物栄養学研究グループ 松村 篤	
栄養素の輸送タンパク質の制御機構と分子育種	2
植物栄養学研究グループ 高野 順平	
リン利用効率の高いダイズの育種	3
植物栄養学研究グループ 高野 順平	
RNA 農薬伝達散布のためのネナシカズラの活用	4
機能ゲノム科学研究グループ 青木 考	
野外トランスクリプトームデータを利用した植物病害診断	5
機能ゲノム科学研究グループ 津島 綾子	
微細藻類のエネルギー代謝を改変する活性を示す化合物	6
代謝機能学研究グループ 小川 拓水	
植物共生真菌 <i>Serendipita indica</i> が分泌する根系発達促進化合物	7
代謝機能学研究グループ 岡澤 敦司	
タケ由来ミミズ堆肥の作出と植物病害抑制効果の評価	8
植物病理学研究グループ 東條 元昭	
植物ウイルス遺伝子の大規模同義置換によるウイルス病原性の改変	9
植物病理学研究グループ 望月 知史	
「病気に強く大きく育つ」植物の作成	10
細胞分子生物学研究グループ 稲田 のりこ	
細胞内温度イメージングによる発熱機構アッセイ系の確立	11
細胞分子生物学研究グループ 稲田 のりこ	
大阪の里山保全活動における棚田再生と維持活動の意義	12
栽培管理学研究グループ 築瀬 雅則	





マメ科緑肥作物のリレー混作導入による減肥効果

松村 篤

matsu20@omu.ac.jp



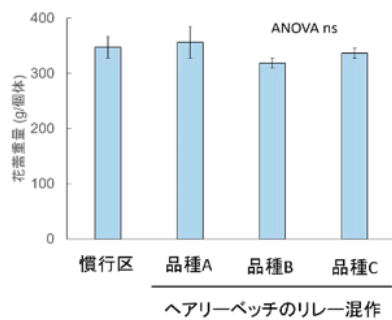
脱炭素社会実現に向けた国際的な天然ガスの価格上昇や肥料の輸出削減、国際情勢の不安定などが原因で世界的に肥料価格が高騰しており、肥料の大部分を海外に依存している我が国にとっては大変苦しい状況です。これを受けて、根粒菌との共生によって窒素肥料の代替が可能で土壌蓄積養分の回収・再資源化を図ることができる緑肥作物の利用が推奨されています。しかし、わが国は耕地率が低いという地理的条件から土地生産性の向上を図った集約栽培に頼らざるを得ないため、換金性がない緑肥作物の導入に生産者は消極的です。研究室では、集約栽培下でも緑肥を活用して化学肥料の投入量を減らす方策として緑肥リレー混作効果を検証しています¹⁾。リレー混作とは、主作物の栽培中に別の作物の栽培を開始する混作方法であり、栽培に時間差を設けることで植物間の光や養分の競合をできる限り抑えるものです。主作物の栽培時にマメ科緑肥作物を混作することで緑肥栽培期間の確保というボトルネックを解消し、化学肥料の投入量を大幅に削減することが期待されます。

リレー混作が主作物の収量に及ぼす影響

培土時に
緑肥を播種



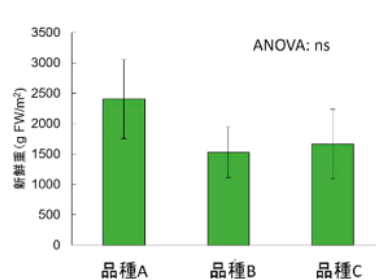
主作物(ブロッコリー)の収量はリレー混作しても低下しない



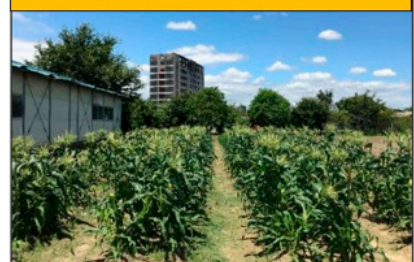
リレー間作が緑肥生産に及ぼす影響



緑肥のバイオマスも十分に確保できる



緑肥すき込みが後作物の収量に及ぼす影響



すき込みによって化学肥料と同等の収量が得られる

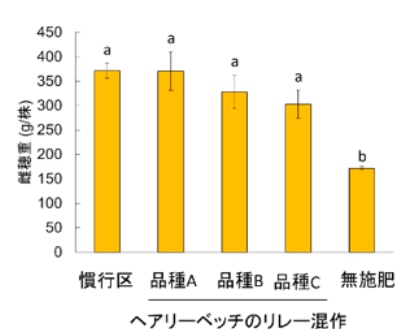


図 リレー混作試験の例. ブロッコリーの培土時にマメ科緑肥作物(ヘアリーベッチ)を側条播種し、春先にすき込むことで後作スイートコーンに対して大幅な減肥が期待される。

参考文献

- 1 松村篤.(2022) 緑肥作物のリレー混作導入によって化石燃料に依存した施肥管理体系からの脱却を図る. 牧草と園芸, 70: 1-5.



栄養素の輸送タンパク質の制御機構と分子育種

高野 順平
jtakano@omu.ac.jp



植物は根で栄養素（ミネラル）を吸収し、体内を運んで利用しています。各ミネラルは植物の成長に必要ですが、多すぎる蓄積は毒になります。植物は、多種の輸送タンパク質をさまざまな細胞の特定の膜コンパートメントに適量配置することで効率よくミネラルを運んでいます。私たちは、ホウ酸輸送タンパク質を発見し、それらが細胞の特定の側の細胞膜に偏って局在することや、ホウ酸濃度の上昇に応答してエンドサイトーシスにより分解されることなどを明らかにしてきました。現在はこれらの現象の分子メカニズムについて、蛍光タンパク質を利用したトランスポーターやバイオセンサーのライブイメージングなど、“観る”ことを重視した研究を展開しています（図1）。

基礎研究の成果を生かし、ミネラル利用効率の高い植物や有害元素の吸収を低減した植物の分子育種にも取り組んでいます（図2）。現在のところ遺伝子組み換えによる改変に成功していますが、ゲノム編集による改変も視野に入れています。

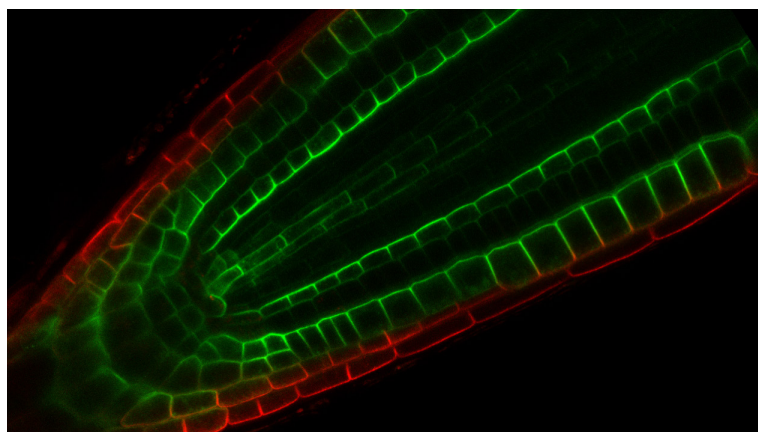


図1. シロイヌナズナの根端におけるホウ酸吸収型チャネル NIP5;1 (赤) とホウ酸排出型トランスポーター BOR1 の局在。これらが共同してホウ酸を土壌から根の内部へ運ぶ。共焦点蛍光顕微鏡により撮像。¹⁾

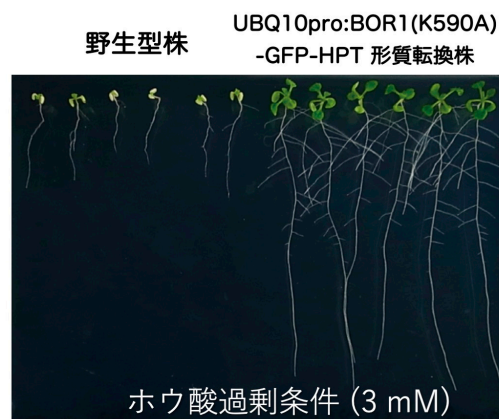


図2. 改変型ホウ酸排出型トランスポーター BOR1 の発現によるホウ酸過剰耐性シロイヌナズナの作出。²⁾

参考文献

- 1 Takano et al. 2017 Plant Aquaporins.
- 2 Wakuta et al. 2016 Frontiers in Cell and Developmental Biology



植物栄養学研究グループ

リン利用効率の高いダイズの育種

高野 順平
jtakano@omu.ac.jp



ダイズは植物性タンパク質源として重要な作物です。ダイズの栽培には多量のリン肥料が使われていますが、リンは枯渇が懸念される天然資源であり、すでに価格高騰が大きな問題となっています。高野、松村（植物栄養学研究グループ）、築瀬（栽培管理学研究グループ）、横井（遺伝育種学研究グループ）のチームでは、ダイズおよび野生ダイズ（ツルマメ）の特定の品種/系統が持つ優れたリン利用能を司る遺伝子を同定し、減肥料栽培に向けたダイズ育種に活かすことを目的とした研究を進めています。我々の用いる主要な研究手法は、多数の品種/系統の生長を少ないあるいは難溶性のリンを与えたポット栽培および圃場栽培で評価し（図1）、生長量と遺伝子の多型の相関を調べる Genome Wide Association Study (GWAS) と呼ばれる方法です。菌根菌の共生や根の分泌物の分析も行います。掛け合わせによって優れたリン利用能を司る遺伝子を多収の系統に導入し、多収かつ減肥料を実現するのが最終的な目標です。

本研究は、内閣府のムーンショット型研究開発制度および戦略的イノベーション創造プログラム (SIP) 第3期の課題として実施しています。

品種A



難溶性リン区 リン施肥区

品種B



難溶性リン区 リン施肥区

図1. 難溶性リンとして FePO_4 を与えた場合と通常リン施肥として KH_2PO_4 を与えた場合のダイズの生長。品種Aは品種Bよりも難溶性リンの利用効率が高いと考えられる。

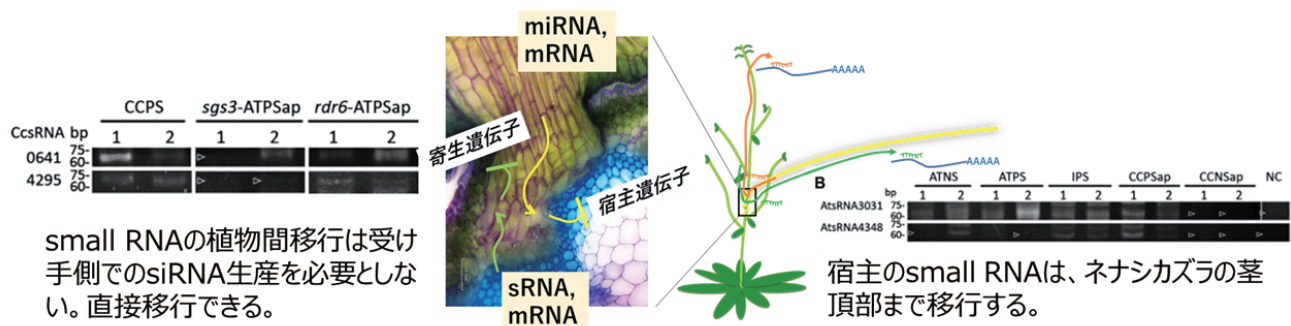


RNA 農薬伝達散布のためのネナシカズラの活用

青木 考
kaoki@omu.ac.jp



バイオ農薬の選択肢の一つとして RNA 農薬があります。害虫やウイルス病害への対策として RNA 干渉型の RNA 農薬が注目されていますが、RNA の生産方法や、散布方法には未だに開発の余地があります。特に散布において、作物の表面から吸収させる方法は効率的であるとは言い難いものです。この解決策として、RNA の植物間輸送を可能とする茎寄生植物の利用が考えられます。ネナシカズラ属の寄生植物ニホンネナシカズラやアメリカネナシカズラは、単子葉植物には寄生しませんが、双子葉植物にはあまり種を選ばず多くの植物種に寄生することができます。そして寄生した相手の植物から低分子干渉 RNA を受け取って次の植物に伝達することが可能です¹⁾。また低分子干渉 RNA 以外にも、長鎖の mRNA の植物間輸送が可能です²⁾。幸いなことに、ネナシカズラの種類を選べば寄生によって作物収量低下をもたらすような副次作用は最低限に抑えることが可能です。接種した RNA を植物体内で増幅し、ネナシカズラによって RNA 農薬を圃場全体に配送する技術をさらに高効率化するために、移行を助ける RNA 配列モチーフの開発も行っています。



参考文献

- 1 Subhankar B, Yamaguchi K, Shigenobu S, Aoki K. (2021) Trans-species small RNAs move long distances in a parasitic plant complex. *Plant Biotechnology (Tokyo)*, 38, 187–196.
- 2 Park SY, Shimizu K, Brown J, Aoki K, Westwood JH. (2021) Mobile Host mRNAs Are Translated to Protein in the Associated Parasitic Plant *Cuscuta campestris*. *Plants (Basel)*, 11, 93. doi: 10.3390/plants11010093



野外トランスクリプトームデータを利用した植物病害診断

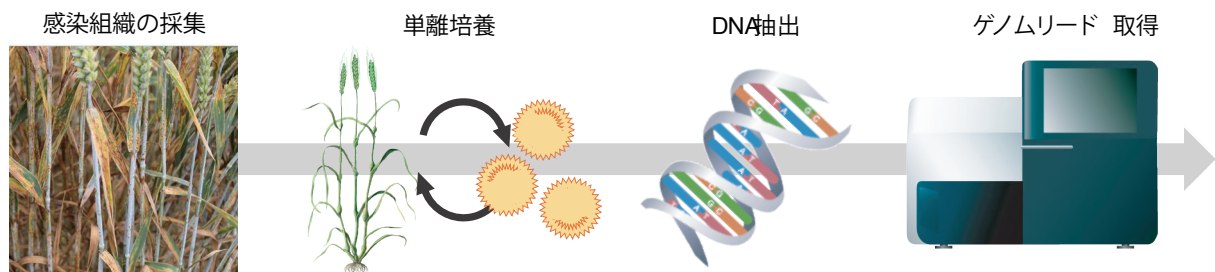
津島 綾子

ayako.tsushima@omu.ac.jp

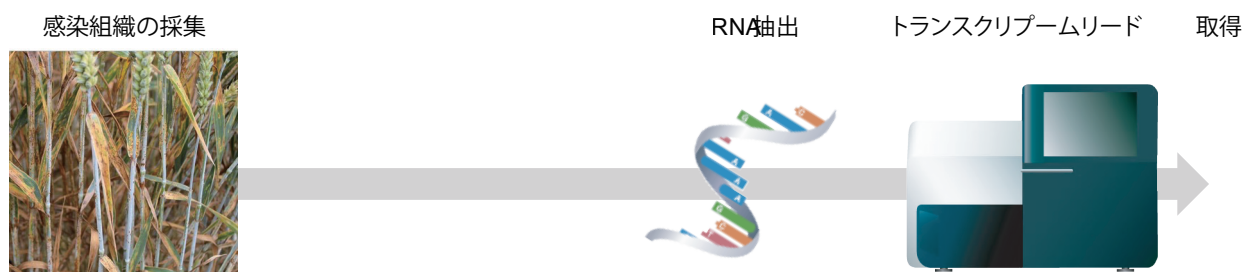


新興および再興病原体は食料安全保障に対する深刻な脅威です。我々の研究グループでは、新たに発生した植物病害の特徴を迅速かつ精密に把握することを目的に、次世代シーケンサーを用いた植物病原体の集団ゲノミクス研究を行っています。その鍵となるのが、field pathogenomics という野外で採集した罹病植物サンプルの RNA-seq データを利用した植物病原体のジェノタイピング技術です¹⁾。この技術を用いると、培養が難しい絶対寄生菌で特に問題となる単離培養のステップを省略できるため、スピーディな診断が可能になります（図 1）。2020 年にアイルランドで約 50 年ぶりに発生したコムギ黒さび病菌の調査では、本手法がレース判定や薬剤耐性に関わる変異の同定に貢献しました²⁾。現在は、field pathogenomics をさらに改良し、日本で発生している植物病害のモニタリングに応用すべく研究を進めています。

(a) 従来法



(b) Field pathogenomics



Images © 2016 DBCLS Togo TV, CC-BY-4.0

図 1. NGS データを用いた病害診断。(a) ゲノムリードを用いる通常の方法。(b) Field pathogenomics では、圃場で採集した感染組織から直接トランスクリプトームリードを取得することで、診断に要する時間を短縮できる。

参考文献

- 1 Hubbard A, Lewis CM, Yoshida K, et al (2015) Field pathogenomics reveals the emergence of a diverse wheat yellow rust population. *Genome Biology* 16:23.
- 2 Tsushima A, Lewis CM, Flath K, et al (2022) Wheat stem rust recorded for the first time in decades in Ireland. *Plant Pathology* 71:890–900.

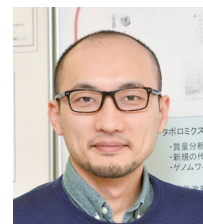


代謝機能学研究グループ

微細藻類のエネルギー代謝を改変する 活性を示す化合物

小川 拓水

ogawat@omu.ac.jp



微細藻類の一種であるユーグレナは、低酸素ストレス下で貯蔵多糖パラミロンを主要炭素源として中性脂質ワックスエステルを合成し、そのプロセスを通じて代謝エネルギーを獲得することが知られています。我々の研究グループは、ユーグレナにおいてパラミロンの分解およびワックスエステルの蓄積を促進する作用を持つ低分子化合物を発見しました（図1）¹⁾。これらの低分子化合物の作用機構を解明することにより、ユーグレナが低酸素ストレス下でのエネルギー代謝をどのように制御しているのかについて新たな洞察をもたらす可能性があります。現在、これらの低分子化合物の作用点を特定するために、単離したオルガネラを使用した生化学的解析を進行中です。また、低分子化合物の作用機構を包括的に理解するために、メタボローム解析を実施する計画も進行中です。

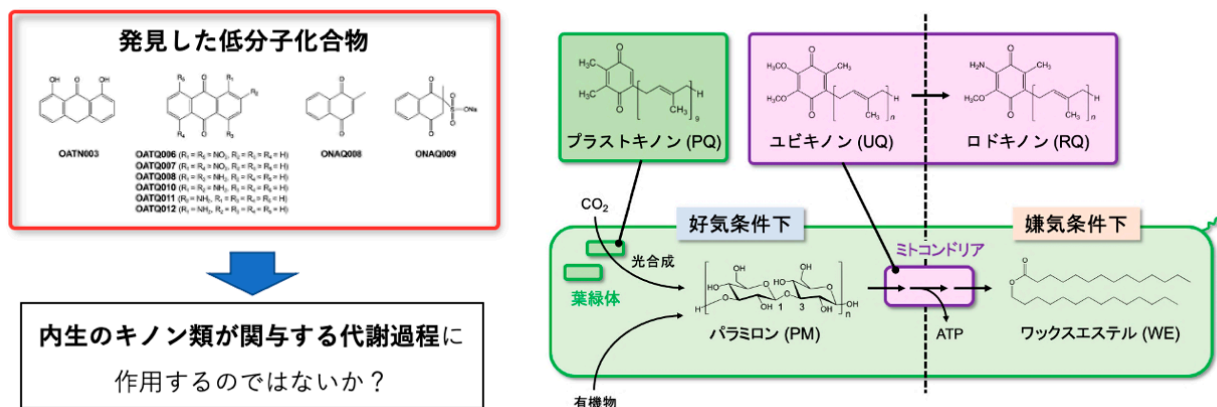


図1. パラミロンの分解およびワックスエステルの蓄積を促進する作用を持つ9個の低分子化合物のうち8個はキノン類であった¹⁾。このことから、これらの低分子化合物は内生のキノン類が関与する代謝過程に影響を与える可能性が考えられた。現在、ユーグレナから単離した葉緑体やミトコンドリアを用いて、低分子化合物の作用点を明らかにするための実験を進めている。

参考文献

- Ogawa, T., Nakamoto, M., Tanaka, Y., Sato, K., Okazawa, A., Kanaya, S., Ohta, D. (2022) Exploration and characterization of chemical stimulators to maximize the wax ester production by *Euglena gracilis*. *J. Biosci. Bioeng.*, 133, 243–249. Doi: 10.1016/j.jbiosc.2021.12.005



代謝機能学研究グループ

植物共生真菌 *Serendipita indica* が分泌する根系発達促進化合物

岡澤 敦司

okazawa.atsushi@omu.ac.jp



Serendipita indica は、植物に内部共生し、宿主植物の環境ストレス耐性や成長促進を誘導することが知られている担子菌門の真菌です。我々の研究グループでは、*S. indica* が植物の根系発達を促進する低分子化合物を分泌していることを発見しました（図1）¹⁾。この化合物を活用すれば、植物共生真菌由来の天然生理活性物質によって、作物や産業植物の根系発達を誘導することで、枯渇が懸念されているリンや窒素などの無機栄養素の有効利用が可能となると考えられます（図2）。すなわち、環境に対する負荷の小さい新たな植物成長促進剤としての活用が期待出来ます。現在、各種クロマトグラフィーによって、*S. indica* 由来の根系発達促進化合物の単離精製を進めており、構造解析を進めることでその化学的実体を明らかにすることを目的に研究を進めています。

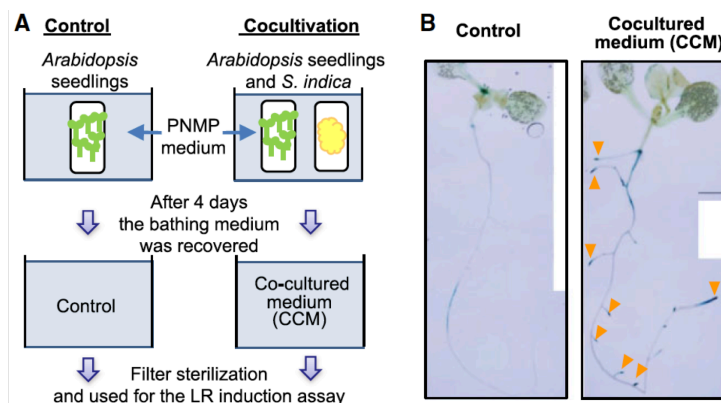


図1. シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) と *S. indica* を透析チューブで隔離した状態で培養した培養液 (CCM) をシロイヌナズナに投与するとオレンジの矢じりで示したように顕著な根系の発達が誘導された¹⁾。

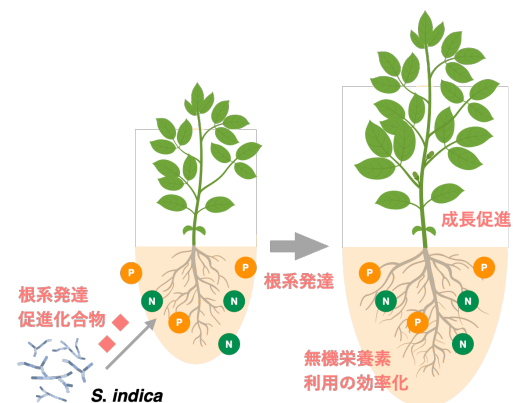


図2. *S. indica* 由来の根系発達促進化合物を植物に投与することでその根系が発達し、無機栄養素利用の効率化が達成される。その結果、植物の成長促進がもたらされる。

参考文献

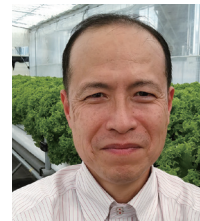
- Inaji, A., Okazawa, A., Taguchi, T., Nakamoto, M., Katsuyama, N., Yoshikawa, R., Ohnishi, T., Waller, F., Ohta, D. (2020) Rhizotaxis modulation in *Arabidopsis* is induced by diffusible compounds produced during the cocultivation of *Arabidopsis* and the endophytic fungus *Serendipita indica*. *Plant Cell Physiol.*, 61, 838–850. doi: 10.1093/pcp/pcaa008



植物病理学研究グループ

タケ由来ミミズ堆肥の作出と植物病害抑制効果の評価

東條 元昭
tojo@omu.ac.jp



土壌微生物と植物病害抑制効果の視点からタケ廃材をミミズの食作用で有機農業用培土に変換する技術の開発を発想し、その有用性を検証しています。国内のタケはかつては食用や建材等に利用されていましたが、輸入製品の増加や生産者の高齢化によって現在は多くが放置され農地や森林崩壊の原因になっています。一方でタケ材の粉末は土壌中で徐々に分解される性質があり、土壌改良材の候補として注目されています。我々の研究グループは、タケ材の粉末をミミズ堆肥化することで、少なくとも一部の植物病害と植物との組み合わせで発病抑制効果が発揮されることを見出しました（図1）¹⁾。病害抑制効果をもたらす要因には不明な部分が多いですが、土壌糸状菌が産生する抗菌物質や（図2）、ミミズ堆肥化による土壌微生物の多様化が関わっていることがわかりました。難分解性のため継続的にすき込めば腐植を増やす効果も期待できます。タケ由来ミミズ堆肥について、土壌病害を持続的に抑制する技術としての開発を目指して、作出法の改良や、抑制要因のさらなる解析を進めています。



図1. ハクサイ幼植物に苗立枯れを起こす *Pythium aphanidermatum* に対するタケ由来ミミズ堆肥の抑制効果

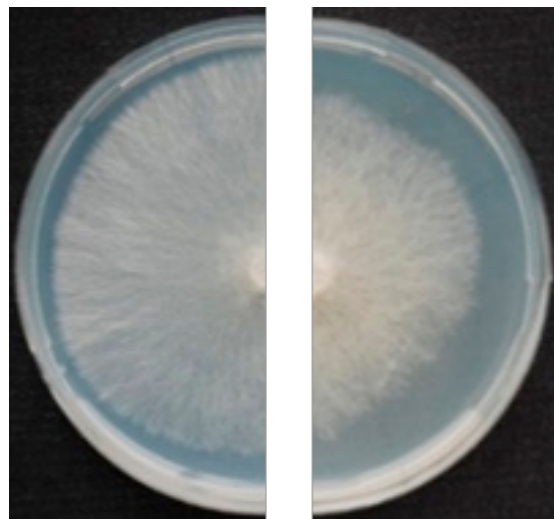


図2. 無菌フィルター（ポアサイズ $0.22 \mu\text{m}$ ）を通したタケ由来ミミズ堆肥抽出液の *Rhizoctonia solani* AG1-IB の菌叢抑制効果（右）。比較対象は滅菌蒸留水（左）

参考文献

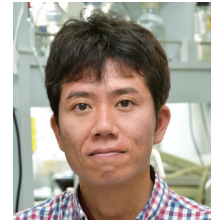
- 1 You XD, Kimura N, Okura T, Murakami S, Okano R, Shimogami Y, Matsumura A, Tokumoto H, Ogata Y, Tojo M (2019) Suppressive effects of vermicomposted-bamboo powder on cucumber damping-off. Japan Agricultural Research Quarterly (JARQ), 53: 13–19. doi.org/10.6090/jarq.53.13



植物病理学研究グループ

植物ウイルス遺伝子の大規模同義置換による ウイルス病原性の改変

望月 知史
tomochi@omu.ac.jp



キュウリモザイクウイルス（CMV）は様々な農作物にモザイク病を引き起こす重要な植物病原ウイルスです。我々の研究グループでは、CMVの外被タンパク質遺伝子をアミノ酸配列を変えずに大規模同義置換することにより、CMVの病原性を低下させることができることを発見しました（図1）¹⁾。大規模同義置換によるウイルス遺伝子改変を活用すれば、ウイルス病原性を決定するアミノ酸の特定を必要とせずに、植物ウイルスを弱毒化することが期待できます。現在、大規模同義置換によりなぜウイルス毒性が低下するのかを明らかにすることを目的に、外被タンパク質遺伝子のAU含量やUpA含量を変化させた変異CMVの病原性を解析する研究を進めています。大規模同義置換による弱毒化のメカニズムが明らかになれば、ウイルス遺伝子の人為的設計によるウイルスワクチンの迅速な作出法として活用することができます。

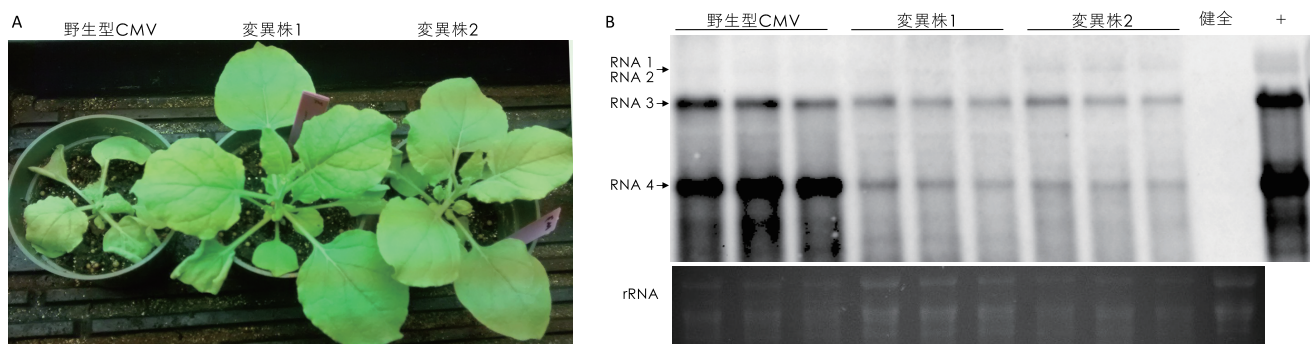


図1. 外被タンパク質遺伝子を大規模同義置換した2種のCMV（変異株1と変異株2）による *Nicotiana benthamiana* の症状（A）とウイルスRNAの蓄積量（B）。ウイルス遺伝子のアミノ酸は変異していないに関わらず、野生型CMVよりも症状が軽く、ウイルスRNA蓄積量も減少している。

参考文献

- 1 Mochizuki, T., Ohara, R., and Roossinck, M.J. (2018) Large-scale synonymous substitutions in the cucumber mosaic virus RNA 3 facilitate amino acid mutations in the coat protein. *Journal of Virology* 92: e01007-18



「病気に強く大きく育つ」植物の作成

稲田 のりこ

norikoinada@omu.ac.jp



野外の植物は、多くの微生物病原体にさらされています。植物は微生物病原体に対する抵抗性機構を備えており、病原体感染時にはその抵抗性機構を発動させることで病原体の繁殖を抑えます。一方、抵抗性機構の発動は、植物が本来成長に割くリソースを奪い、成長を抑制してしまうことがわかっていました。

私たちの研究グループでは、モデル植物を用いた基盤研究において、複数の糸状菌由来病原体に対して抵抗性が亢進し、同時に植物サイズが大きくなる植物の変異体を見出しました。この遺伝子がコードするタンパク質は、細胞内の物質輸送を制御すると考えられています。現在、タンパク質のそのような細胞内機能が、病原体抵抗性機構制御、植物サイズ制御にどうつながるのか、その仕組みを調べています。さらに、ゲノム編集で農作物となる植物へ同遺伝子の変異を導入することにより、「病気に強く大きく育つ」植物を作成する取り組みも進行中です。

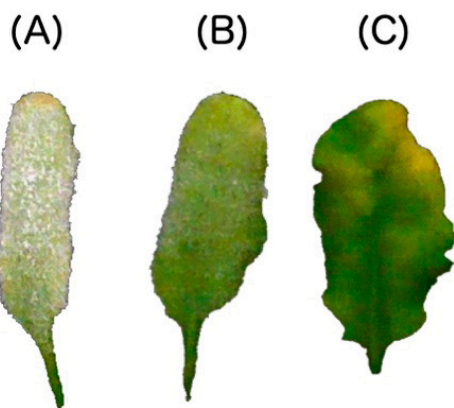


図1. うどんこ病を引き起こす *Golovinomyces orontii* に感染して2週間目のシロイヌナズナ野生型 (A)、単一遺伝子の変異体 (B)、同じファミリーに属する複数の遺伝子を発現抑制した形質転換体 (C) の葉。野生型ではうどんこ病の白い菌叢で葉全体が覆われているのに対し、変異体および発現抑制体では菌叢がほとんど見られず、抵抗性が亢進していることがわかる。

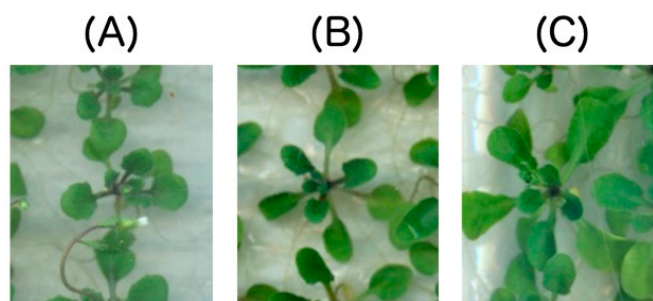


図2. 培地で生育させたシロイヌナズナ野生型 (A)、単一遺伝子の変異体 (B)、同じファミリーに属する複数の遺伝子を発現抑制した形質転換体 (C) 植物。変異体および発現抑制体は、野生型と比較して植物サイズが増大している。



細胞分子生物学研究グループ

細胞内温度イメージングによる 発熱機構アッセイ系の確立

稲田 のりこ

norikoinada@omu.ac.jp



恒温動物は、寒冷な環境では褐色脂肪細胞を活性化させて発熱し、体温を維持します。この褐色脂肪細胞における発熱は、ミトコンドリアの内膜に存在する UCP1 というタンパク質によって担われています。UCP1 の活性化によるミトコンドリア代謝機能の活性化は、肥満の解消や健康維持につながることで期待されています。

私たちの研究グループでは、動物培養細胞に蛍光温度プローブを適用し、細胞の温度変化を可視化（イメージング）できる手法の確立に取り組んできました^{1,2)}。この手法により、細胞内ではミトコンドリア周辺の温度が高いことを明らかにしています（図 1）。また、同様の手法を用い、褐色脂肪細胞の発熱機構の一端を明らかにした例がこれまでに報告されています。

一般に使用されているガン細胞由来の培養細胞では UCP1 はほとんど発現していませんが、私たちの研究グループでは、UCP1 を発現する動物培養細胞を作成し、細胞内温度イメージングを行うことにより、発熱機構を解析する系の確立を進めています。

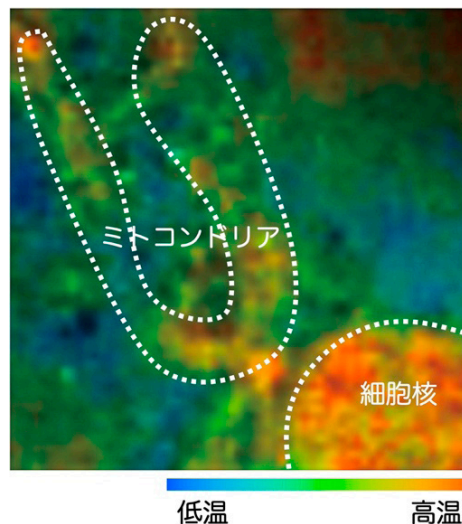


図 1. 動物培養細胞に蛍光温度プローブを導入し、細胞内温度イメージングで細胞内の局所的な温度を可視化した図。低温を青、高温を赤の疑似カラーで示す。ミトコンドリア周辺および細胞核内の温度が他の部分と比較して高いことがわかる。

参考文献

- 1 Inada, N., Fukuda, N., Hayashi, T., and Uchiyama, S. (2019) Temperature imaging using a cationic linear fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy. *Nature Protocols*, 14, 1293-1321. doi: 10.1083/s41596-019-09145-7
- 2 Tsuji, T., Kajimoto, K., Inada, N. (2023) Measurement of intracellular temperature in brown adipocytes using a cationic fluorescent polymeric thermometer. "Methods in Molecular Biology" Chapter 8, 87-102. Humana Press



栽培管理学研究グループ

大阪の里山保全活動における 棚田再生と維持活動の意義

築瀬 雅則

myanase@omu.ac.jp



わが国における中山間地域は全国の耕地面積の約4割、総農家数の約4割、農業産出額の約4割を占めるなど、わが国の農業において重要な役割を担っている。また洪水防止機能、土砂崩壊防止機能といった多面的機能が適切に発揮されている中山間地域は、国民の大切な財産である（農林水産省）。日本第3位の人口である大阪府の北部に位置する能勢地区において風光明媚な棚田が存在し、中山間地としての機能をもつ。しかし過疎化高齢化による農業人口の減少により、耕作放棄地が増加しており里山の衰退が懸念される。最近では全国的に鹿、猪、猿、熊などが中山間地域の人家周辺の畑を食い荒らすニュースが後を絶たない。人の命を脅かす存在になってきており、能勢でも獣害は止まない。そのためにも荒れた里山に人手をもう一度入れて再生することが望まれる。またそこから地産地消の魅力を生み出し、大阪の食を作り出す場であると考え、地域活性化につながる。大都市近辺の中山間地域をより活性化させたいと考える。これまで棚田の再生と維持活動をボランティアの方たちと共に大阪みどりのトラスト協会主催で10年以上行っており継続中である、今後も付近の皆さんの力を借りながら根強い里山保全活動を支援していきたい。

大阪の里山保全 安心安全の食料生産

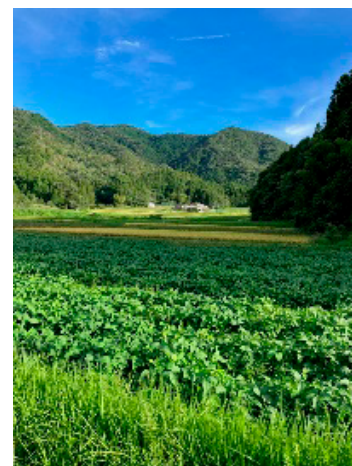
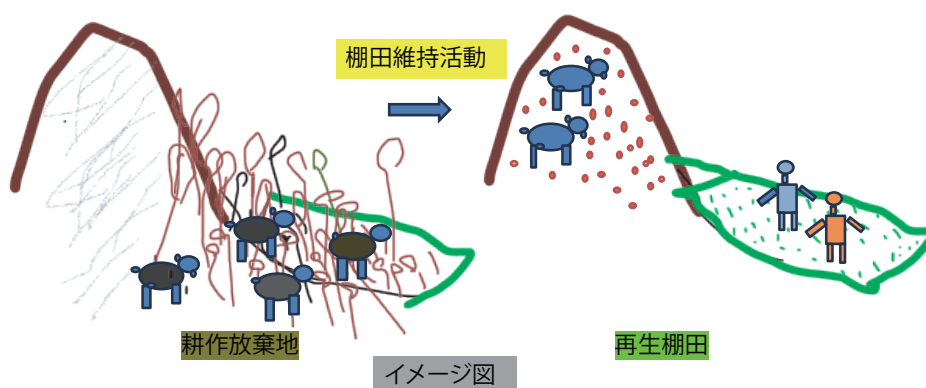


写真 丹波篠山のダイズ畑と水田。この特産地を北隣とする能勢を活性化。



大阪公立大学



<https://www.omu.ac.jp/>



大阪公立大学 農学部

応用生物科学科

Department of Agricultural Biology



<https://www.omu.ac.jp/agri/undergraduate/agribio/>