

形質転換植物デザイン研究拠点

令和6年度

成果報告会

日時：令和7年2月27日(木)～2月28日(金)

場所：筑波大学総合研究A棟 110室 (公開講義室)



つくば機能植物イノベーション研究センター
Tsukuba-Plant Innovation Research Center

主催



筑波大学つくば機能植物イノベーション研究センター
形質転換植物デザイン研究拠点

植物の微弱光環境適応機構

田中 秀一¹、丸山 祐汰¹、石橋正光¹、木藪 亮太¹、高橋 大樹¹、津守 不二夫²、
和田 正三³、後藤 栄治¹

¹九州大学大学院農学研究院、²九州大学大学院工学研究院、³東京都立大学

樹冠を形成する植物が繁茂しているため、直射日光が届かない、暗い林床に生育する草本植物は、それでもその微弱光環境に適応して生きている。鬱蒼とした暗い環境で生活している植物には、倒木などにより林冠に一時的にギャップが生じ、直射日光が当たると、光が強すぎて枯死してしまうものが多い。何故か？

植物は、光の質や量、光の向きや強度を感知し、オルガネラ、細胞、組織・器官レベルの応答を通して、最適な光合成を行っている。その応答機構の一つが葉緑体光定位運動である。葉緑体光定位運動とは、葉緑体の細胞内局在が光強度依存的に変化する現象である。光合成の場である葉緑体は、弱光のもとでは光受容を最大にするために光に対して垂直の向き整列する（集合反応、図1）一方で、強光のもとでは光に対して平行な向きに整列する（逃避反応、図1）。葉緑体光定位運動は、植物の葉における光吸収量に大きな影響を及ぼす。シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の葉において、弱光下で集合反応が誘導されると光の吸収量が増加する一方で、強光下で逃避反応が誘導されると光の吸収量は減少する（図1）。このような葉緑体光定位運動による光の吸収量変化は、植物の生存競争・生死を司る。逃避反応を欠く植物は、強光に曝されると重大な光障害を生じ枯死に至る。また、集合反応を欠く植物は、弱光環境で生長量が大きく低下する。これらの変異株を用いた解析から、葉緑体光定位運動は植物の光環境適応において重要な役割を担うことを、報告者らは明らかにしてきた。

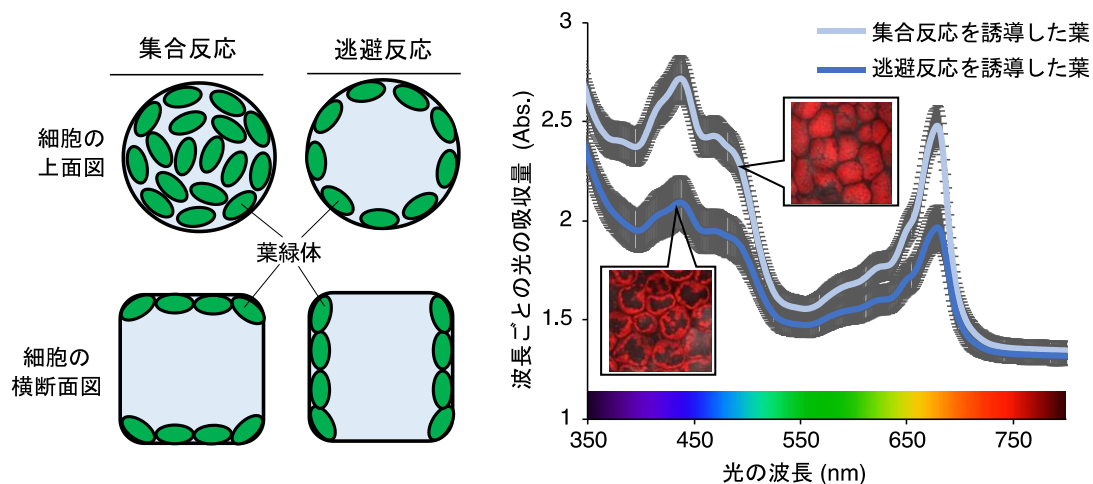


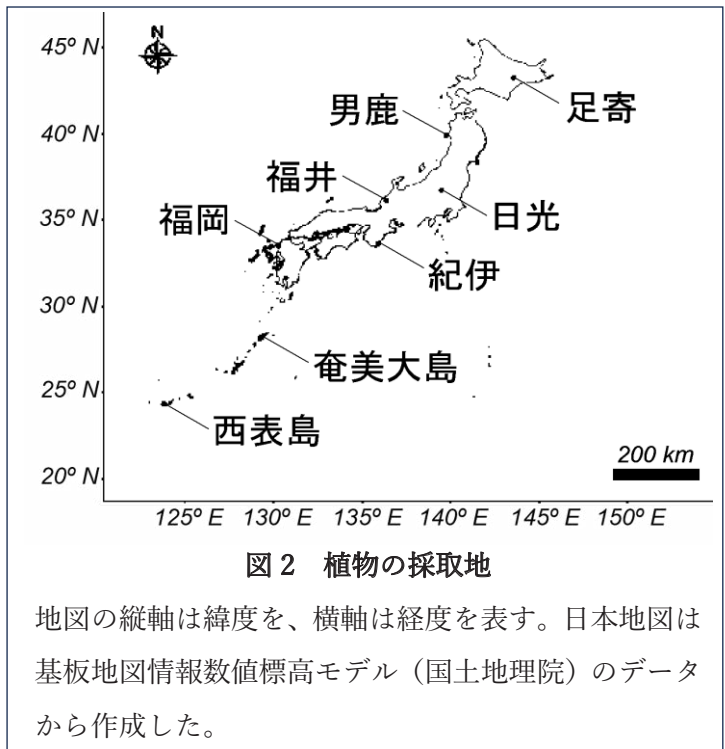
図1 葉緑体運動の模式図（左）と葉緑体運動による葉の光の吸収量変化（右）

一方で、野外で育つ植物の生長解析では、葉緑体光定位運動の寄与はほとんど考慮されてこなかった。そこで申請者らは、西表島（沖縄）から足寄町（北海道）に至る日本広域の林床を対象として、150 種以上の植物を採取し、葉緑体光定位運動の有無と葉緑体の細胞内配置を網羅的に解析した。その結果、葉緑体光定位運動は幾つかのパターンに分類できた。興味深いことに、林床に生育する植物種の約 4 割は、葉緑体光定位運動の運動性が低く、そのほとんどは西表島や奄美大島の照葉樹林帯の直射日光の到達しない林床（微弱光環境）に生育する植物であった。

そこで、微弱光環境に生育する植物の葉緑体光定位運動は小さいのか調べるために、葉緑体光定位運動の運動性が低い植物種が採取された調査地（西表島：亜熱帯の照葉樹林帯）の微弱光環境（相対照度と R/ FR 比）を目安に、全国の採取地を再度選定

し、南は西表島から北は足寄町にいたるまで、日本全国の 8 地域から、林床に生育する植物（145 種類）を採取した（図 2）。採取した植物の葉緑体光定位運動の運動性は、葉における赤色光の透過率変化を用いて定量的に評価することができるため、集合反応および逃避反応に基づく最大速度を算出し、それらの速度を変数として階層的クラスタリング解析を行った結果、2 つのクラスターに分けられることが分かった。全体の 95% を占めるクラスターに分けられた植物の葉緑体光定位運動の運動性は著しく低いことがわかった。また、葉緑体光定位運動が小さい植物種は、照葉樹林帯に限らず全国各地に存在したことから、微弱光環境に生育する植物の葉緑体光定位運動は小さいことが明らかとなった。

ここで興味深いことに、葉緑体光定位運動の運動性が低い植物は、弱光環境で高い光合成活性を維持できる一方で、強光が照射されると重大な光障害を生じ、葉が枯死することが分かった。本発表では、微弱光環境に生育する植物における葉緑体光定位運動の低下の理由と意義、およびその分子機構について説明し、報告者らが見出した微弱光環境に生育する植物の光獲得戦略の詳細を報告する予定である。



アサガオの光周性花成における BBX 転写因子の機能解析

樋口 洋平¹、楊 一寧²、馬 冉¹、高井 大樹²、小野 公代²、小野 道之²

¹東京大学大学院農学生命科学研究科、

²筑波大学生命環境系つくば機能植物イノベーション研究センター

アサガオ(*Ipomoea nil*)の原産地は中南米の低緯度付近であり、生薬として人類が運んだ結果、世界中の中低緯度に広く分布するとされる。日本はアサガオの分布域の中で高緯度に位置し、江戸時代を中心に独自の園芸品種が数多く作出されてきた。日本在来品種（標準系統 st. Violet）は敏感な短日植物であり、光周性花成誘導機構のモデル植物として文科省の National BioResource Project (NBRP)のリソースである。アサガオの花成ホルモンは *FLOWERING LOCUS T (FT)* 相同遺伝子 (*InFT1*, *InFT2*) がコードするが、その発現調節機構については解明が進んでいない。その原因の1つが花成生理形質に注目した突然変異体がほとんど無かったことにある。最近、ゲノム編集法の導入により遺伝子破壊株の作出が可能となり、分子遺伝学的な研究が始まった。本研究では花成の中心的な転写因子遺伝子の機能解析に取り組んだ。

CONSTANS(CO)はシロイヌズナにおける *FT* 遺伝子の中心的な転写活性化因子であり、B-BOX (BBX)型転写因子の1つである。アサガオには *CO* と高い相同性を示す遺伝子が3種 (*InCO*, *InCOL (CO-LIKE)1*, *InCOL2*) 存在する。我々は、先行研究において *CO* と最も高い相同性を示す *InCO* に関しては、日本在来品種(st. Violet)には1塩基欠失によるフレームシフトがあり機能がほぼ失われていること、低緯度産の野生系統(st. Africa)では花成抑制因子として機能し、限界暗期長の決定に関与していることを CRISPR/Cas9 を用いたノックアウト変異体の解析により明らかにしていた。長日植物であるシロイヌズナの *CO* が花成促進因子であるのに対して、短日植物のアサガオの *InCO* が花成抑制因子であること、およびアサガオにおける花成促進因子の探索には興味を持たれる。

本研究では、アサガオ全ゲノム配列のゲノムワイド解析から、*InCO* を含む BBX 転写因子ファミリーがアサガオのゲノム中に35個あること、さらには *CO* の相同遺伝子が3つあることを再確認した。続いて機能未知の2遺伝子(*InCOL1*, *InCOL2*)について CRISPR/Cas9 を用いたノックアウト変異体を作出した。これらは B-BOX の大部分を欠損するヌル変異体であり、ホモ接合系統を得た(*Incol1*, *Incol2*)。続いて、両者の交雑によるホモの2重変異体を作出した(*Incol1* x *Incol2*)。これらは全て標準系統 st. Violet が遺伝的背景であり、Violet においては *InCO* にフレームシフト変異があるため、実質的には *Inco* との2重、3重変異体になる。CRISPR/Cas9 を導入した T-DNA を自家受粉により除いた系統を選び、以降の実験に用いた。なお、これらの植物の外部形態に違いは観察されなかった。

光周性花成の観察実験は以下の3種の条件で行った。1) アサガオの伝統的な「One-Shot 実験」。P1Pの人工気象室で連続光下で育てた播種後7日目の芽生えに誘導暗期を1回だけ与えた後、再び連続光下で育てた。4週間後に花芽をつけた個体の割合(花成率)、1個体あたりにつけた花芽数、蔓の先端に花芽をつけた個体の割合(頂端花成率)を調査した。2) 「限界暗期長調査」。1)と同じであるが、長さの異なる誘導暗期を10日間与えて限界暗期長を調査した。3) 「到花日数調査」。屋外の特設網室(環境影響評価温室)で承認を得て栽培し、自然日長条件下における最初の開花までの日数を調査した。

1) One-shot 実験を行った結果、*Incol1*, *Incol2* 共に花成誘導促進が観察された。特に *Incol1* で顕著であり、*Incol1*, *Incol2* 共に花成抑制因子であることが示された。2) 限界暗期長を調べた結果を図1として示す。*Incol1* 変異により限界暗期が約1時間短くなったこと、*Incol1* x *Incol2* 二重変異では8時間暗期でも短日と感ずることがわかった。3) では、7月から9月の栽培期間において到花日数は、*Incol1* < *Incol2* < Wild (Violet)の順に短縮され、播種日が遅くなるほど開花日が早まる傾向を示し、限界暗期長の違いを反映した結果が得られた。

本研究の結果、*InCOL1*, *InCOL2* も短日性花成の抑制因子であることが解った。*InCO*, *InCOL1*, *InCOL2* は抑制因子として限界暗期長の決定に関与していることが示された。現在、これらの変異体を用いて詳細な限界暗期長を解析しており、特に、*Incol1* x *Incol2* 二重変異における限界暗期長の超短縮は興味深い。また、*InFT1*, *InFT2* を含む下流の遺伝子の発現解析を進めており、3つの *CO* 相同遺伝子がどのように短日性花成を抑制的に制御するのかについて明らかにしたい。

今夏は *Incol1* x *Incol2* 二重変異体を加えて特設網室における栽培試験を行い、自然日長における花成反応を観察する計画である。この二重変異体が限界暗期長が大幅に短縮されてもなお短日性を維持していることは興味深い。そこで、*InBBX* 転写因子遺伝子群の中から花成の促進因子をコードする可能性がある候補遺伝子を選び、CRISPR/Cas9を用いたノックアウト変異体の作出を開始した。これらの結果も合わせて、アサガオの短日性花成誘導機構の解明に迫りたい。

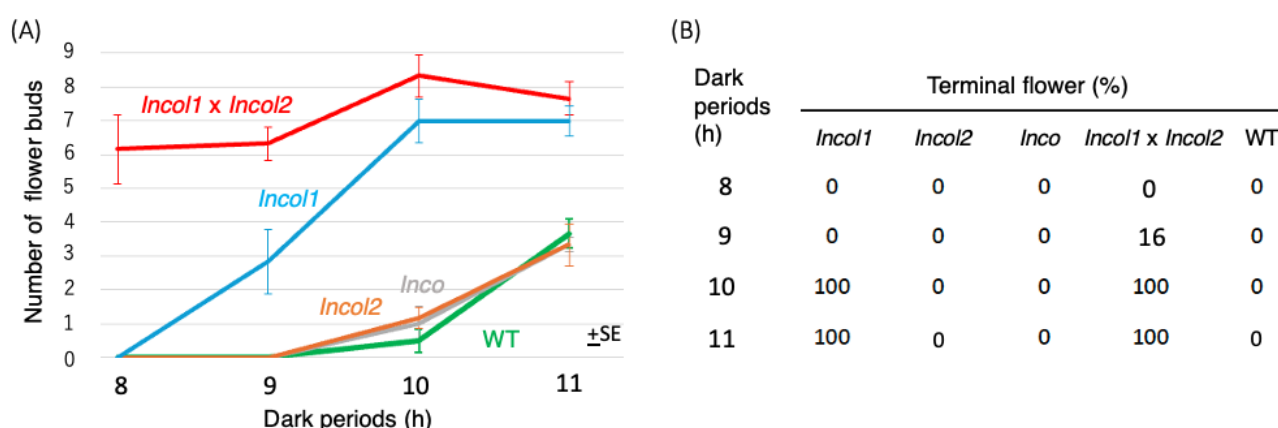


図1 ゲノム編集体で暗期長の異なる光周期を与えた際の花成誘導

播種後7日目の芽生えに10日間の光周期 (8D/16L, 9D/15L, 10D/14L, 11D/13L) を与え、約4週間後に1個体あたりの花芽数(A)及び頂端花成率(B: シュートの頂端まで花芽を形成することで栄養芽が無くなる個体の割合)を調べた。*Incol1*, *Incol2*, *Inco*, *Incol1* x *Incol2* は、ゲノム編集によるノックアウト体(ホモ系統)とその交配による二重変異体。WT(野生型)を含め、全て標準系統の *st* Violet背景。10日間の光周期処理により限界暗期長の違いが示された。(n=6)

トウガラシの乾燥耐性に関連するエピジェネティック制御と遺伝子発現

Rahmadani Pramanindita AIRLANGGA¹、BUZAS Diana Mihaela²、○伊藤 秀臣³

¹北海道大学生命科学院、²筑波大学 T-PIRC、³北海道大学理学院

トウガラシ (*Capsicum annuum*) は、中国、トルコ、インドネシア、メキシコ、スペインなどの熱帯地域において、食文化や農業における重要な農産物である。これらの国々は世界的な主要生産地として知られ、トウガラシはその多様性や栄養価から広く利用されている。しかし、近年の気候変動に伴う干ばつが農業全般に深刻な影響を与えており、トウガラシも例外ではない。干ばつという環境ストレス下での植物の応答には、アブシジン酸 (ABA) が中心的な役割を果たす。ABA は、気孔閉鎖や根の成長を制御するだけでなく、ストレス応答遺伝子の活性化を促進し、乾燥耐性の向上に寄与する重要な植物ホルモンである。本研究では、日本で栽培されている 4 つのトウガラシ品種を対象に、乾燥ストレス下での ABA 含量、関連遺伝子の発現、さらに品種間での耐乾性の違いを明らかにすることを目的とした。加えて、今後のエピジェネティクス研究における方向性についても検討した。

研究対象には、「札幌」「栃木」「鷹の爪」「沖縄」の 4 品種を選定し、それぞれ乾燥ストレス応答を複数の環境条件下で評価した。まず、乾燥耐性スクリーニングとして、マンニトールを 30% 添加した MS 寒天培地を用いて、人工気象機内で栽培を行った。この実験では、各品種の初期段階における乾燥耐性を評価した。次に、温室を利用した実験を 2 つの条件で実施した。第 1 条件では、土壌と籾殻混合物 (1:1) の培地を使用し、植物を 3 週齢まで通常通り水やりを行い、その後、乾燥処理区では水やりを週 1 回に変更し、対照区では通常通りの水やりを継続し植物の表現型を観察した。第 2 条件では、同じく温室で 6 週齢まで通常の水やりを行った後、乾燥処理区を人工気象機内に移し、4 日間水やりを停止することで乾燥ストレスを付与した。その後、生存率、葉数、茎径、地上部と根の長さ、地上部と根の比率 (R/S 比)、ABA 含量、乾燥応答遺伝子 (*CaDREB2A* および *CaNAC72*) の発現量を測定し、形態的、生理的、分子レベルでの応答を包括的に評価した。

実験の結果、乾燥ストレスは地上部の成長を抑制する一方、根系の成長を促進する傾向が観察された。このため、R/S 比は乾燥耐性の重要な指標となり、生存率、ABA 含量、および *CaNAC72* 発現量と密接に関連していることが示唆された。鷹の爪品種は発芽率、葉数、茎径が著しく減少し、乾燥下で根系

が大きく伸長する特徴を示したが、基礎 ABA 含量が最も低く、耐乾性が低いことが明らかになった。一方、札幌品種は乾燥下でも葉数や茎径の減少が最小限に抑えられ、ABA 含量の増加も顕著であり、高い耐乾性を有することが確認された。また、栃木品種と沖縄品種は、耐乾性が中程度でありながら、それぞれ異なる応答パターンを示した。

遺伝子発現解析では、すべての品種で *CaDREB2A* の発現が増加したが、品種間での違いは小さかった。一方、*CaNAC72* の発現は鷹の爪で最も高く、これが耐乾性の低さと関連していることが示唆された。逆に札幌、栃木、沖縄では *CaNAC72* の発現が抑えられ、これが耐乾性の高さに寄与している可能性がある。

さらに、本研究の成果を基盤として、今後はエピジェネティクスの視点から乾燥耐性に関連する遺伝子制御機構を解明する研究を進める予定である。特に、*CaDREB2A* や *CaNAC72* の発現が DNA メチル化やヒストン修飾によってどのように調節されているのかを解析し、乾燥ストレスにおけるエピジェネティックな変化を明らかにすることが重要である。また、耐乾性が高い品種と低い品種でのエピジェネティックマークの違いを比較することで、遺伝子発現の差異を引き起こす要因を特定し、これを育種プログラムに応用することを目指している。

これらの結果は、トウガラシ品種間で異なる乾燥応答を明らかにしている。特に札幌品種は、基礎 ABA 含量が高く、乾燥下でも安定した成長を維持することで、高い耐乾性を示すことがわかった。一方、鷹の爪品種は基礎 ABA 含量が低く、形態的な減少が顕著で、耐乾性が低いことが判明した。本研究の成果は、トウガラシの耐乾性を向上させるための育種プログラムに貢献し得るものである。



図 1. 各品種の乾燥耐性の程度は異なっていた。本写真は、6 週齢時に撮影されたもので、4 日間の乾燥ストレス処理後の各品種の形態的な応答（葉のしおれや茎の状態の違い）を視覚的に示している。

特定網室におけるカラマツ表現型解析のための栽培系管理方法の構築

古川原 聡¹、石尾 将吾¹、山岸 祐介¹、坂本真吾²、光田 展隆²

¹住友林業株式会社、²産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門

【研究の概要】

私たちは植物の木質（二次細胞壁）形成のマスター制御因子である NAC SECONDARY WALL THICKENING PROMOTING FACTOR（NST）転写因子の遺伝子の配列を最適化によってカラマツを高強度化するための研究を進めてきた。NST 転写因子の機能は産業技術総合研究所の光田先生によってシロイヌナズナ変異体の解析から明らかにされている。私たちは光田先生の研究グループと共同でカラマツの NST 転写因子を高活性化するためのアミノ酸置換パターンを探索し、プロトプラストでの一過的転写活性測定によって多数の高活性型 NST 転写因子を特定した（図 1）。それらの一部はシロイヌナズナで発現させると実際に木質の増加が確認された。そこで、※カラマツにおいても高活性型 NST 転写因子の 1 種類を発現させたところ、期待通りに仮道管細胞で同様の効果が認められた（図 2）。

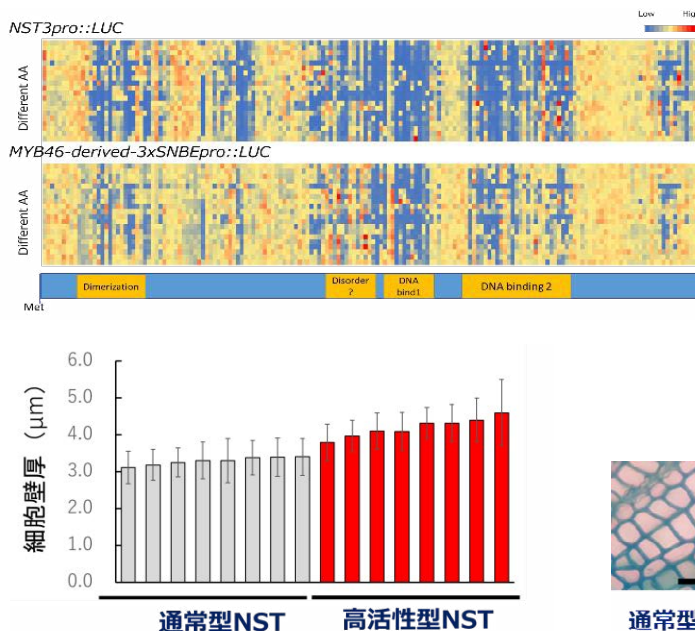


図 1) アミノ酸置換した NST 転写因子の転写活性化能の評価

図 2) 高活性型 NST 転写因子を発現させたカラマツにおける木質増強効果

左グラフ：二次細胞壁の厚さ、右写真：茎横断面切片の拡大図

※この成果は、NEDO（国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構）の委託業務の結果得られたものです。

上記の結果はカラマツの幼植物体の観察から得られたが、産業利用できる品種を開発するためには大きなサイズの個体での効果を確認する必要がある。年輪を形成する樹木では晩材が幹の強度に寄与していることから、高活性型 NST 転写因子の効果が晩材でも発揮されるのであれば、産業に利用する木材の強度の向上が期待できる。しかし、幼植物体には晩材が存在しないため、私たちは晩材での効果をまだ評価できていない。

野外で生育するカラマツは春から成長を開始すると夏に入るまでは早材を形成し、7月からは晩材を形成するが、この切り替わりには気温や日長が関与していると考えられている。上のカラマツの実験は室内の温度一定条件・人工光下で栽培した個体を材料としたが、このような環境では季節性を再現できないため晩材を形成させることが難しい。そこで、私たちは高活性型 NST 転写因子を発現させたカラマツ（遺伝子組換え体）を通年で野外環境に近い条件で育成できる施設として特定網室の利用を検討させていただくこととなった。

【進捗】

今年度（初年度）はトライアルとして野生型カラマツの幼植物体を人工環境下から特定網室に移して越冬できるか確認するための実験を開始した。カラマツは短日条件で冬芽を形成して休眠が誘導され、冬になると落葉する。冬の低温にさらされることで休眠打破が可能となり、春先に気温が上昇すると芽吹いて展葉する。特定網室は野外環境に近いとはいえ、外気よりも温度が高くなる可能性がある。そのためカラマツの休眠打破のための低温要求を満たすかどうか重要なポイントとなる。今春冬芽から葉が展開すれば問題ないと判断し、夏にかけて成長させてから晩材形成の有無を確認する予定である。



図 3) 特定網室で栽培中のカラマツ幼植物体

左写真：9月に短日条件下で育成を開始、右写真：12月に葉が褐変化、冬芽を形成

E型肝炎ウイルス粒子（VLP）と食中毒トキシン結合ドメインを用いた

食べるワクチンの開発

保富 康宏¹、小野 公代¹、織田 伽羅²、浅賀 正充¹、山川 奈津子¹、

平井 唯子²、宇佐見 祐大²、國澤 純¹、小野 道之²

¹医薬基盤・健康・栄養研究所 霊長類医科学研究センター

²筑波大学 生命環境系 つくば機能植物イノベーション研究センター、

近年、ワクチンの開発研究が盛んであり、ワクチンの多様性が際立ってきた。経口ワクチンの1種である食べるワクチンは、農作物等の可食部にワクチン抗原を発現・蓄積させて経口接種するものであり、主に農作物となる植物で研究開発が行われている。食べるワクチンは、植物を形質転換する方法が開発されて以降、長く開発が行われてきた人類の夢の科学技術の1つである。我々は食べるワクチンの問題点を解決すべく共同開発を進めてきた。現状と課題について報告する。

ヒトの獲得免疫には液性免疫(全身免疫)と粘膜免疫があり、多くの感染症の感染防御としては、初発感染部位・侵入口となる粘膜における粘膜免疫が重要である。一般的な注射によるワクチン接種では液性免疫のみが誘導されるが、経口ワクチンでは粘膜免疫を誘導するだけでなく、液性免疫をも誘導できるため、感染後のワクチンの効果も期待できる。

一般的な注射型のワクチンは高額になることが多いが、それらの原因を列举すると、弱毒ウイルスであれば高度な安全性が必要、動物から精製すれば他のウイルスによる汚染の回避が必要、注射のための高度な精製が必要、免疫効果を高めるアジュバントの開発が必要、低温・凍結保管が必要、医療従事者による接種が必要などが挙げられる。食べるワクチンにはこれらの問題が無く、安価に多量に栽培でき、広範な普及（難民キャンプや被災地、パンデミックによる封鎖都市等への支援）が期待できる。但し、新規の感染症に対する高度な医療目的では注射型のワクチンが適しており、食べるワクチンは既知の身近な感染症を対象とすることが理想的である。食べるワクチンの特性として、管理された工場におけるワクチン生産が自然災害等により不可能になった場合にも栽培・供給することが可能であるが、遺伝子組換え作物であるため、関係する法律に従うこと、市民の理解を得ることなども必要である。

食べるワクチンの問題点としては、摂食する中で分解・消化され易いこと、免疫応答細胞に効率良く届かない可能性が指摘されてきた。本研究では、消化耐性と免疫原性を持つ、E型肝炎ウイルスのウイルス様粒子（Virus-like Particle）及び、高いアジュバント活性と免疫原性を持つ、食中毒トキシンの非毒性結合領域を用いて、トマトとニンジンを用いた食べるワクチンの開発をすすめた。

E型肝炎ウイルス(Hepatitis E Virus, HEV)のキャプシドは、単一の分子からなる非病原性タンパク質であり、自己会合能をもちウイルスゲノム RNA 無しにウイルス様粒子(HEV-VLP)を形成する。HEV-VLP は優れた消化耐性を示し、腸管粘膜のパイエル板の免疫応答細胞 (M 細胞)に取り込まれ易い性質がある。E型肝炎のワクチンとしては、利用できるものが未だ無く、食べるワクチンとしての開発が期待できる。我々は、トマト、タバコ、ニンジンなどへの形質転換をすすめてきた。拠点研究では、形質転換トマト系統の育成と摂食試験を目的として行なった。

トマトの形質転換では、HEV-VLP にタンパク質の検出のために HSVtag を C 末端に付加し、果実特異的な発現プロモーター(E8)を用いて発現するコンストラクトを用いた (図 1 A)。カナマイシン耐性を用いてアグロバクテリウムを介してトマトの実験系統 (*Solanum lycopersicum* st. MicroTom)に形質転換した。抗 HSVtag 抗体を 1 次抗体とした Western Blotting により、果実におけるタンパク質量を算出し、形質転換トマト系統では 126 µg/g fr. wight (#31 系統)の高い発現量を確認した(目標値は 50 µg)。

昨年度までに マウスへの経口接種試験により、粘膜免疫誘導の指標となる IgA の産生を確認した。本年度はカニクイザルへの経口接種を予定したが、サルは再現性良く生のトマト果実を摂食させることが難しいことが判り、やむなく凍結乾燥させたトマト果実を直前に溶解して飲ませることにした。現在、凍結乾燥させた粉末を摂取計画に必要な量を準備している。これらには 16 mg/g dry wight (#31-3 系統)が含まれており、全体として十分な投与量を確保できる見通しである。

難民キャンプなどにおいてはワクチンは、食料の次、清潔な水よりも重要なものとされる (WHO)。食中毒の原因となるトキシンタンパク質の非毒性結合領域はワクチン効果が知られており、最近、3種の食中毒細菌の非毒性結合領域を繋げて1分子にした3価ワクチン(CVC)が開発された。CVC はコレラ菌 (*Vibrio cholerae*)、腸管出血性大腸菌 (*VeroToxin2*: Shiga toxin-producing *E. coli*)及び、ウェルシュ菌 (C-terminal of *Clostridium perfringens* toxin) の3種の非毒性結合領域から構成されており、3種の免疫原性と相互のアジュバント効果がある。我々は、トマトとニンジンへの形質転換をすすめてきた。遺伝子導入のコンストラクトを示す (図 1 B)。未だ作製途中中であるが中間状況について報告する。

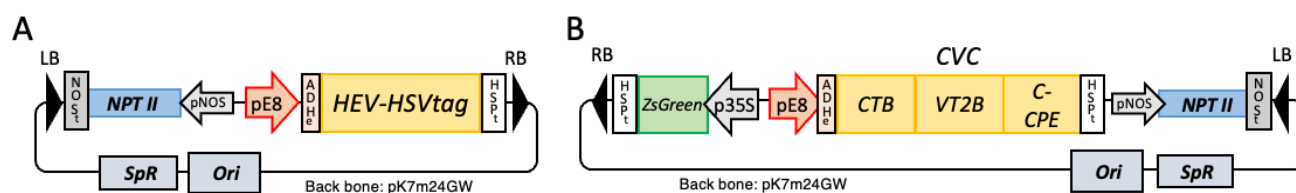


図1 トマト用形質転換コンストラクトを含むアグロバクテリウムのバイナリーベクターの構成

HEV-HSVtag (HEV-VLP)と CVC (3 価ワクチン: CTB, CT2B, C-CPE) は、E8 promoter と ADH (alcohol dehydrogenase) 翻訳 enhancer、HSP (heat shock protein) terminator によりトマト成熟果実で多量に発現する。NPTII (カナマイシン耐性酵素)と ZsGreen (緑色蛍光蛋白)は形質転換体の選抜を目的として恒常的に発現する。LB (left border)と RB (right border)は T (transfer)-DNA の境界配列、Ori は複製開始点、SpR はバイナリーベクターに載る抗生物質耐性マーカー。

謝辞： 本研究を進めるにあたり、多くの方々にお世話になりました。深く御礼を申し上げます。

水ナスがもつ多汁性遺伝子に関する研究

瀬上 修平¹、小泉 望²、杉本 貢一³、松倉 千昭³

¹大阪府立環境農林水産総合研究所・食と農の研究部園芸グループ、²大阪公立大学・大学院農学研究科、³筑波大学・T-PIRC

大阪府の特産野菜である水ナスは、生の果実を手で絞ると水が滴り落ちるほど多汁で、果皮が柔らかいことを特徴としている。特に多汁性（果肉に力を加えると果汁が溢れ出る特性を指す）形質は、果形や果皮色が多様に存在するナスの中でも非常に珍しい特性であり、ナスでは珍しく生食が可能であることや漬物の美味しさに強く関係していると考えられる。これまでに、ナスの多汁性は、ろ紙に乗せた果肉片を10Nの力で圧縮し、ろ紙に浸み込んだ果汁重量を測定して、その値を果肉片の重量で除して求めた果汁指数（%）を用いて評価がなされており、品種比較によって水ナスが他品種と比較して果汁指数が著しく高いことは示されている（堀江・安藤、2014）。しかし、この多汁性形質がどのような性質により成り立っているのかは明らかになっていない。そこで本研究では、水ナスの多汁性に関する遺伝学的な解析を行い、原因遺伝子を明らかにすることで機能解明を図ることを目的としている。

これまでに、多汁性をはじめとする果実特性を遺伝学的に明らかにすべく、標準的な果実特性を持つナス品種と水ナス（本研究では‘泉州絹皮水茄子’（柿本種苗））の交配後代を用いて遺伝解析を進めてきた。まず親品種とF₁個体の形質調査およびF₂における分離比を確認したところ、多汁性が潜性遺伝する質的形質であることを明らかにした。さらに、F₂世代を用いた Quantitative trait locus (QTL) 解析により、第9染色体上に多汁性を決定する遺伝子座を見出した。この遺伝子座は、果肉と果皮の硬さ、果実比重にも関与しており、水ナスの果実性質にとって重要な遺伝子座であると考えられた。その後、後代を用いてファインマッピングを進め、候補領域を約150 kbまで特定した。水ナスの全ゲノムシーケンスデータを取得し、候補領域内の多型を調べた結果、水ナス遺伝子型で欠失変異のある遺伝子が見出された。以後、この候補遺伝子を *JCY* とする。

本共同研究課題では、①*JCY*を含む周辺領域を遺伝子型別に分けた自殖系統（遺伝解析に用いた系統の交配後代 F₅ 世代）の表現型調査、を進めつつ、順遺伝学的手法で見出した候補遺伝子 *JCY* が真に水ナスの多汁性に関わる原因遺伝子であるかを明らかにするため、②ナスの遺伝子組換えおよびゲノム編集による相補性検定と③同じナス科植物であるトマトを材料としたゲノム編集による検証を試みた。①自殖系統の表現型調査では、QTL

解析で得られた同遺伝子座の効果と同等の結果が確認でき、水ナス遺伝子型個体は標準的なナス遺伝子型およびヘテロ接合型と比較して明らかに果汁指数が高く、多汁性を示した（図）。現在、親品種に加えて、この自殖系統の後代を用いて機能解析を進めている。②ナスの相補性検定は、大阪公立大学の小泉望教授と取り組んでおり、水ナスに中生真黒（標準的な日本ナス品種）型 *JCY* を導入し、多汁性が失われるか、または中生真黒を含む標準的な果実特性のナス品種でゲノム編集による *JCY* の遺伝子破壊を行い、多汁性となるかを検証している。前者は、‘中生真黒’からプロモーターとターミネーターを含む *JCY* 断片を PCR で増幅、増幅断片を pGEMT-easy ベクターにクローニングし、バイナリーベクターである改変 pBI121 にサブクローニングした後、in planta-regeneration (iPR) 法により水ナスに導入することとした。現在、バイナリーベクターへのサブクローニングまで完了しており、形質転換実験を進めている。ゲノム編集についても、水ナス遺伝子型で欠失している位置および周辺を編集する3種の gRNA を設計し、ゲノム編集用の CRISPR/Cas9 ベクターを3つ作製し終え、導入を試みている。③トマトのゲノム編集はトマト *JCY* ホモログをノックアウトするように編集する CRISPR/Cas9 ベクターを作製し、マイクロトムへの形質転換により現在 T₁ 種子が得られている。今後 T₁ 個体の中からホモ変異を持ち且つ T-DNA を持たない個体を選抜し、果実の表現型調査からトマトにおける *JCY* の機能を明らかにしたい。



（図）自殖系統の多汁性を比較した様子
左：ヘテロ接合型
右：水ナス型ホモ個体の果肉片

【参考文献】

堀江秀樹・安藤聡(2014) 調理を考慮したナスの品種特性評価 野菜茶業研究所研究報告 13・9-18

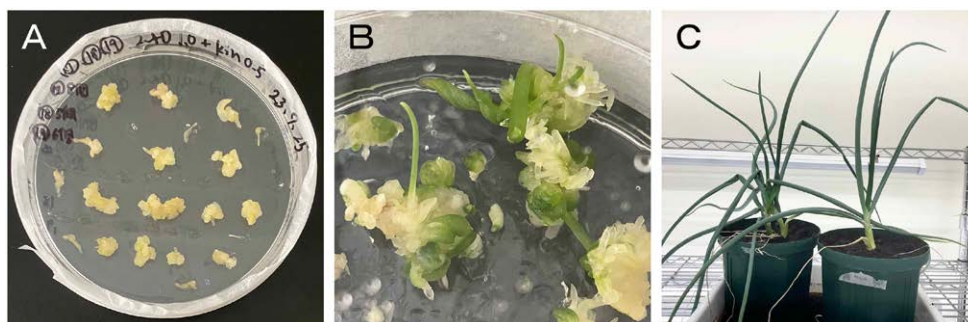
タマネギにおける形質転換系の確立と鱗茎肥大メカニズム解明への取り組み

木内 大空¹、野中 聡子²、松倉 千昭²、○池田 裕樹^{1, 3}

¹宇都宮大学大学院地域創生科学研究科、²筑波大学 T-PIRC、³宇都宮大学農学部

タマネギ (*Allium cepa* L.) は、世界中で生産・消費されている主要な野菜で、国際連合食糧農業機関 (FAO) と農林水産省の統計によると、2023 年における世界と国内での生産量は、それぞれ約 1 億 1,127 万トンと約 117 万トンである。タマネギは可食部 (鱗茎) の肥大程度が、収量を決定する最も重要な要素であることから、鱗茎を十分に肥大させることが生産上の主要目標となる。この鱗茎の肥大は、日長と温度により制御される。このうち日長については、シロイヌナズナの *FLOWERING LOUCUS T* (*FT*) 遺伝子の相同遺伝子である *AcFT1* が、長日条件において葉身で発現して鱗茎肥大を促進し、*AcFT4* が短日条件において発現して鱗茎肥大を抑制することが解明されている。しかし *AcFT* 以外の鱗茎肥大に関わる遺伝子については、演者らがシロイヌナズナの *GIGANTEA* の相同遺伝子 (*AcGI*) を見出した程度で、知見が非常に少ない。

シロイヌナズナの *FT* 遺伝子は、*FT* タンパク質に翻訳された後、茎頂分裂組織へ移動し、下流で機能する遺伝子を制御することが明らかとなっている。一方でタマネギの *AcFT1* および *AcFT4* は、鱗茎の肥大を促進あるいは抑制していることは解明されているが、これらの遺伝子の下流で機能する遺伝子に関する知見は不足している。本研究グループでは、タマネギの茎頂を含む組織 (茎盤) に、*AcFT* の下流で鱗茎肥大を制御する鍵遺伝子が存在していると考え、研究を進めてきた。その結果、シロイヌナズナの花芽分化に関わる *APETALA1* (*API*) の相同遺伝子である *AcAPI* を、鱗茎肥大を制御する新たな鍵遺伝子として見出した。そして本共同利用・共同研究課題では、この遺伝子をタマネギにおいて過剰発現させた形質転換体を作成し、機能証明を目指している。本発表では、*AcAPI* を鱗茎肥大の鍵遺伝子として見出した経緯、および *AcFPI* を露地栽培した複数のタマネギ品種において発現解析し、鱗茎肥大と

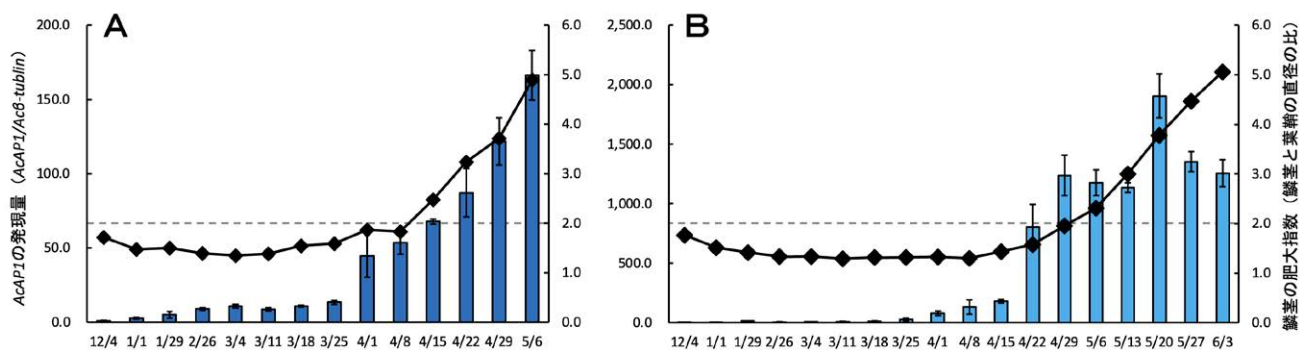


第1図 昨年度までに確立した固定種‘泉州黄’を用いたタマネギの再分化系
A：根端組織からのカルス誘導、B：カルスからのシュート再生、
C：順化が完了した植物体

の関係について調査した結果を紹介する。また昨年度の成果報告会で発表した、国内で一般的なタマネギの固定種‘泉州黄’で確立した植物体の再分化系（第1図）を用いた、*AcAPI* を過剰発現させた形質転換体の作出状況についても報告する。

タマネギの栽培は、宇都宮大学農学部附属農場（栃木県真岡市）で行った。鱗茎肥大を制御している鍵遺伝子の探索には‘もみじ3号’（（株）七宝）を使用し、2019年9月12日に播種、11月6日に露地圃場に定植した。2020年1月16日、3月13日、5月8日に葉身と茎盤をサンプリングし、RNAを抽出した。その後、次世代シーケンサー（NoveSeqTM 6000、イルミナ（株））でトランスクリプトーム解析（*de novo* RNA-Seq 解析）を行い、葉身で発現して鱗茎肥大を促進する *AcFTI* と共発現している遺伝子を、茎盤から探索した。トランスクリプトーム解析で見出した *AcAPI* の発現解析には、早生品種の‘ソニック’（タキイ種苗（株））と中晩生品種の‘もみじ3号’の2品種を用いた。2023年9月15日に播種、11月6日に定植した後、12月4日から遺伝子発現解析のためのサンプリングと生育調査を開始し、2024年2月26日までは4週間ごと、以後は1週間ごとに‘ソニック’は5月6日、‘もみじ3号’は6月3日まで行った。サンプリングした葉身と茎盤からRNAを抽出し、逆転写した後、葉身で *AcFTI* の mRNA、茎盤で *AcAPI* の mRNA を、それぞれリアルタイム PCR 法で定量した。生育調査に関しては、葉鞘と鱗茎の直径を調査した。

トランスクリプトーム解析で得られたデータを解析した結果、葉身の *AcFTI* と共発現する *AcAPI* を見出した。この遺伝子を発現解析したところ、‘ソニック’では4月上旬から、‘もみじ3号’では4月下旬から急激な発現上昇がみられるとともに、肥大開始の目安となる鱗茎と葉鞘の直径の比（肥大指数）が、遺伝子の発現に伴って上昇するなど、外観上の鱗茎肥大も確認された（第2図）。*AcAPI* は、他の植物で既知の *API* と共通したドメイン構造を保存していた。またシロイヌナズナ等での花芽分化において、*API* は茎頂において発現し、*FT* により発現が制御されることが知られている。よって本研究で見出した *AcAPI* は、葉身における *AcFTI* の発現により、茎盤での発現が誘導され、鱗茎肥大を誘導する遺伝子であることが示唆された。この *AcAPI* の機能を逆遺伝学的に証明するため、‘泉州黄’由来の *AcAPI* の cDNA を、理化学研究所バイオリソース研究センターから入手したバイナリーベクター（pGWB502）に導入し、*AcAPI* を過剰発現させた形質転換体の作出を進めている。



第2図 ‘ソニック’ (A) と‘もみじ3号’ (B) における *AcAPI* の相対発現量と鱗茎の肥大指数
棒グラフは *AcAPI* の相対発現量を、折れ線グラフは肥大指数を示す。肥大指数は鱗茎と葉鞘の直径の比で、この値が2より大きいと鱗茎が肥大しているとされる。

トマトにおける塩ストレス応答性遺伝子の機能解析

溝井 順哉¹

¹東京大学大学院農学生命科学研究科

果実の糖度は重要な農業形質で、たとえば高糖度のトマトはスーパーマーケットやインターネット通販において、人気を集めている。トマトにおける主要な高糖度化手法の一つとして、塩による浸透圧ストレスや灌水制限で水分吸収を制限する方法がある。このようなストレスを受けると、一般的に果実が小型化する。そのため、光合成産物が濃縮されて、糖度が上がるとされる（「濃縮効果」説）。このように塩などの浸透圧ストレスによって果実が小型化する機構は、水分不足による膨圧の低下が原因だと言われてきた。一方、栄養成長期のストレス応答の研究から、乾燥などの水分ストレスを受けた植物では膨圧の低下が起きる前に、細胞周期・細胞伸長関連の遺伝子の発現抑制が起き、積極的に生育が抑制されることが明らかになってきた。このことから、塩ストレスによるトマトの果実の小型化においても、ストレスによる積極的な生育抑制が行われている可能性があり、メカニズムを再考する必要がある。一方で、塩ストレス下で栽培したトマトの果実においては、葉からの転流や糖代謝についても変化していることが知られている。しかしながら、塩ストレス下で果実での代謝系の変化をもたらす遺伝子発現の変化については網羅的な解析がなされておらず、その制御メカニズムについても不明である。本課題に先立つ研究で、塩ストレスを加えて栽培したトマト果実を用いてトランスクリプトーム解析を行ったところ、ホルモン代謝や細胞サイズの制御、また炭素代謝に関する遺伝子の発現が塩ストレスにより実際に変化することが見いだされた。以上を踏まえ、本研究では、トランスクリプトーム解析で見いだされた経路を分子遺伝学的に解析することによって、塩ストレスによる「濃縮効果」や代謝変化の分子機構に迫ることを目的とした。

本研究では、トランスクリプトーム解析の結果をもとに、個別の代謝産物の蓄積量や遺伝子発現などの機能解析により、解析対象とする経路および着目する塩ストレス遺伝子を絞り込む。プロモーター：GUS 形質転換体を用いた解析により、各応答がどこで起こるのかを組織レベルで特定するとともに、着目する遺伝子の過剰発現体やゲノム編集体を作成して、果実のサイズや糖度などの形質の変化を解析したい。そして、形質の変化が見られた遺伝子や周辺経路の解析を進め、着目した塩ストレス応答

性遺伝子の、塩ストレス下での生殖成長における機能を明らかにすることを計画している。期待される研究成果としては、上記のような仮説が成り立つのかどうか明らかになるという基礎科学的な側面からの成果に加え、遺伝子操作により、果実サイズや糖度を制御する技術の開発に役立つ成果が得られる可能性がある。糖度は果実の重要形質の一つであり、ストレスによる糖度の上昇はトマト以外の植物でも見られることから、トマト以外の基礎、応用研究にもインパクトを与えるポテンシャルがあると期待される。本成果発表会では、塩などのストレスによって果実に起こる遺伝子発現の変化を中心に、関連する実験の結果について説明し、その結果明らかになってきた現象や仮説、着目する経路について紹介する。

植物内在性基質を利用したトマト果実香気成分の改変

○肥塚 崇男¹、吉田 恵祐¹、杉本 貢一²

¹山口大学大学院創成科学研究科、²筑波大学つくば機能植物イノベーション研究センター

希少植物を含めた天然資源に由来する生理活性物質、特にポリフェノールなどの芳香族化合物は長引くコロナ禍での生活習慣病予防など人の健康維持に欠かせない機能性成分として注目されている。その中でも揮発性の芳香族化合物であるラズベリーケトンバラ科ラズベリー (*Rubus idaeus*) 果実の特徴的な香り成分であり、脂肪燃焼促進作用やメラニン生成抑制による美白効果を示すことから、香粧品原料やサプリメントとして利用されている。しかしながら、天然での分布は限られた植物種でしか生産されず、その含有量も極めて少ない。このような場合、グリーンケミストリーの観点から合成生物学などのバイオ生産による供給が一般的であるが、その生産性は外部からの炭素源供給に依存しており、多量のエネルギー源の導入が問題視されている。そこで本研究では、ラズベリーケトンモデル化合物として、ナス科のモデル植物であるタバコおよびトマトにおいて、フェニルプロパノイド生合成経路の *p*-クマロイル CoA を分岐点とした代謝フローのスイッチングにより、植物が本来もつ潜在的な代謝能を活用した、持続的且つ効率的な生理活性芳香族化合物の生産プラットフォームの構築を目指し、その一環としてトマト果実香気成分の改変を目的とした (図 1)。

本研究では、恒常的発現が可能な 35S プロモーター下流に、*p*-クマロイル CoA からラズベリーケトンへと変換する 2 つの代謝酵素 benzalacetone synthase (BAS) および raspberry ketone/zingerone synthase (RZS) (Koeduka et al., 2011) をタンデムに連結した発現コンストラクトを構築した。現在までに、本発現コンストラクトを導入した形質転換タバコを作出し、花色であるアントシアニンの減少と花香としてラズベリーケトンを産生することに成功し、ラズベリーケトンが配糖体の形で蓄積していることを明らかにした (Koeduka et al., 2021)。さらに、フェニルプロパノイド経路のマスター転写制御因子 (*AtPAP1*) の共発現により、生合成前駆体の供給量を強化した形質転換体ではラズベリーケトン量が増大することも明らかにしている。このことから芳香族香気成分であるラズベリーケトンの生産には、生合成経路の分岐点からの代謝フローのリダイレクトが有効であることを見出した (図 2)。

次に、同様の代謝工学デザインをトマトに応用し、マイクロトムでラズベリーケトン生合成遺伝子の過剰発現株を作出した。その結果、形質転換トマトでは野生株に見られないラズベリーケトンおよび更に代謝されたロドデノールが配糖体として果実特異的に蓄積し、その蓄積量は果皮で最も多かった。加えて、果実の異なる成熟段階でラズベリーケトン量を比較したところ、果実が黄色く色づき始めた Turning stage からラズベリーケトンの蓄積が見られ、Light red stage で最大値 (21.7 µg/gFW) を示し

た。更に、フェニルプロパノイド生合成の転写制御因子であるシロイヌナズナ由来の *AtMYB12* を果実特異的プロモーター (*proE8*) 下流で過剰発現させた形質転換トマトを作出し、交配によりラズベリーケトン生合成遺伝子との共発現株を獲得した。その結果、ラズベリーケトン生合成遺伝子の単独過剰発現株よりも約 4.5 倍多いラズベリーケトンが検出された。

以上の結果から、芳香族化合物の生産には植物の細胞内在性基質の強化と代謝経路の分岐点に着目した代謝改変が効果的であることが示唆された。芳香を有する揮発性化合物およびその配糖体は、トマト果実やその加工食品の品質を左右する重要なファクターであることから、本研究はバイオテクノロジー技術を駆使した希少香気成分を付与した高付加価値作物の開発に貢献するものである。今後は、同様の代謝工学デザインを他のアントシアニン色素高生産植物へと応用、あるいは *p*-クマロイル CoA を中間体とするスチルベノイドやジアルシルヘプタノイドなどの他の芳香族化合物の生産研究への展開も視野に研究を進めることを考えている。

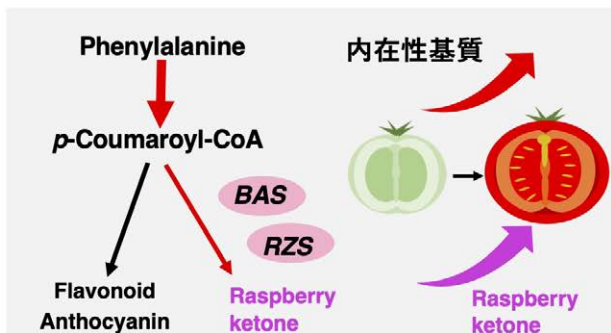


図1. *p*-クマロイルCoAを分岐点とした代謝工学デザイン

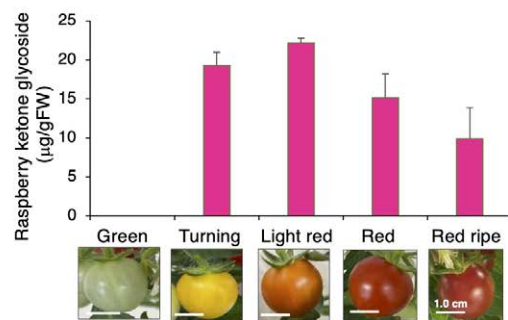


図2. 異なる果実成熟ステージのラズベリーケトン配糖体量

(引用文献)

Koeduka T, Watanabe B, Suzuki S, Hiratake J, Mano J, Yazaki K. (2011) Characterization of raspberry ketone/zingerone synthase, catalyzing the alpha, beta-hydrogenation of phenylbutenones in raspberry fruits. *Biochem Biophys Res Commun.* 412:104-108.

Koeduka T, Takarada S, Fujii K, Sugiyama A, Yazaki K, Nishihara M, Matsui K. (2021) Production of raspberry ketone by redirecting the metabolic flux to the phenylpropanoid pathway in tobacco plants. *Metab Eng Commun.* 13:e00180.

トマトにおけるアクチン脱重合因子の機能解析

井上 丈翔¹、杉本 貢一²、稲田 のりこ¹

¹大阪公立大学農学部、²筑波大学 T-PIRC

アクチン脱重合因子 (ACTIN DEPOLYMERIZING FACTOR, ADF) は、真核生物全体に保存されているアクチン結合タンパク質であり、アクチン繊維のマイナス端からの脱重合とアクチン繊維の切断に働くことによって、アクチン繊維の構造と動態を制御する (Inada 2017)。陸上植物のゲノムにおいて ADF は 10 個程度のファミリーを形成しており、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) ゲノムには 11 個の *AtADF* 遺伝子がコードされている (Inada 2017)。シロイヌナズナの *AtADF* はアミノ酸配列の相同性から 4 つのサブクラスに分類されており、サブクラスごとに異なる発現パターンを示す (Ruzicka et al. 2007)。サブクラス I に含まれる *AtADF1*、*AtADF2*、*AtADF3*、*AtADF4* は、いずれも植物体全体で発現し、*AtADF3* が最も高く、*AtADF4* が最も低い発現レベルを示す (Ruzicka et al. 2007)。

私たちはこれまでに、*AtADF4* の欠損変異体 (*Atadf4*) およびサブクラス I の 4 つの *AtADF* の発現をすべて抑制した形質転換体 (*ADF1-4Ri*) が、糸状菌病原体によって引き起こされる複数の病害 (Inada et al. 2016, および未発表) や植物サイズの増大 (Inada et al. 2021) と言った、農作物の収量増加につながる形質を同時に示すことを明らかにした。しかし、ADF の機能欠損が引き起こす形質が、他の植物でも保存されているのかどうかは明らかになっていない。また *AtADF* は、病害応答や植物成長、環境ストレス応答 (Inada 2017)、葉の老化 (Matsumoto et al. 2024) など、様々な植物生理機構の制御に働くことがわかっているが、他の植物における機能はほとんどわかっていない。本研究では、農作物として有用であり、かつモデル実験植物としても確立しているトマト (*Solanum lycopersicum*) を用い、*ADF* の発現解析やゲノム編集による変異体作成とその表現型解析を通して、トマト ADF (*SlADF*) の機能を明らかにすることを目的とした。

2016 年に韓国のグループにより、トマト Ailsa craig 品種を用いた *SlADF* 遺伝子の同定と、その発現解析が報告されている (Khatun et al. 2016)。Ailsa craig ゲノムには 11 個の *SlADF* 遺伝子がコードされており、アミノ酸配列の相同性により Group A~D の 4 つのグループに分類される。そのうち、Group A に属する *SlADF4*、*SlADF5*、*SlADF7*、*SlADF11* は、シロイヌナズナのサブクラス I *AtADF* と高い相同性を示す (Khatun et al. 2016)。本研究では、ゲノム編集技術が確立しており、またサイズが小さく屋内で生育させやすい Micro-Tom を用い、まず Micro-Tom における *SADF* の同定を行った。

Micro-Tom のゲノム配列は、2024 年に報告された (Shirakawa&Ariizumi, 2024)。本研究開始時にはまだゲノム情報が公開されていなかったことから、Micro-Tom ゲノム解読プロジェクトのメンバーである大阪公立大青木考博士の協力のもと、シロイヌナズナ *AtADF* の配列を元に *SIADF* の同定を行った。その結果、Ailsa craig と同様、11 個の *SIADF* が同定された。それぞれの *SIADF* の配列は、Ailsa craig と Micro-Tom との間で完全に一致していた。

次に、Micro-Tom における Group A *SIADF* の遺伝子発現解析を行った。13 週齢まで育成した Micro-Tom 植物の根、若い葉、成熟葉、茎、花、果実など 11 種類の器官から RNA を抽出し、Group A に含まれる 4 つの *SIADF* について発現レベルを解析した。その結果、サブクラス I *AtADF* と同様、Group A *SIADF* も植物体全体で比較的高い発現を示すことがわかった。この結果は、Khatun らによる報告とも一致していた (Khatun et al. 2016)。11 種類の器官において Group A *SIADF* 間の発現レベルを比較したところ、多くの器官において *SIADF5* の発現が最も高く、*SIADF11* の発現が最も低かった。

サブクラス I の 4 つの *AtADF* の発現を全て抑制した *ADF1-4Ri* は、糸状菌への応答や植物成長において常に *Atadf4* 単独変異体より強い表現型を示す (Inada et al. 2016, Inada et al. 2021)。シロイヌナズナサブクラス I *AtADF* の機能がトマトの Group A *SIADF* に保存されているならば、トマトにおいても Group A における複数の *SIADF* に変異を導入することにより、強い表現型が得られると期待される。このことから、Group A の 4 つの *SIADF* 全て、あるいは複数の *SIADF* に同時に変異が導入されたラインの作出を目指して、4 個のターゲット配列を選定した。得られた 4 個の候補ラインについて DNA 配列を実施したところ、*SIADF4* に変異が導入されたゲノム編集トマトが作出できたことを確認した。一方、Group A の他の *SIADF* には変異は導入されていなかった。

今後は、*SIADF4* に変異が入ったゲノム編集トマトの表現型解析を通して、*SIADF4* の機能解析を進めるとともに、引き続きゲノム編集トマトの作出を進め、Group A における他の 3 つの *SIADF*、及び複数の Group A *SIADF* に同時に変異が入ったラインの確立を目指す。また、*Nicotiana benthamiana* における一過的発現系を用いた細胞内局在解析、精製タンパク質を用いたアクチン繊維脱重合活性の解析などを行い、*SIADF* の機能を総合的に明らかにする。

<引用文献>

- Inada, N., Higaki, T., and Hasezawa, S. (2016) *Plant Physiology* 170, 1420-1434
Inada, N. (2017) *J. Plant Res.* 130, 227-238
Inada, N., Takahashi, N., and Umeda, M. (2021) *J. Plant Res.* 134, 1291-1300
Khatun, K., Robin, A.H.K., Park, J.-I., Kim, C.K., Lim, K.-B., Kim, M.-B., Lee, D.-J., Nou, I.S., Chung, M.-Y. (2016) *genes* 7, 79
Matsumoto, T., Koichi, K., and Inada, N. (2024) *Biorxiv* doi.org/10.1101/2024.05.14.594232
Ruzicka, D.R., Kandasamy, M.K., McKinney, E.C., Burgos-Rivera, B., and Meagher, R.B. (2007) *Plant J.* 52, 460-472
Shirakawa, K., and Ariizumi, T. (2024) *Plant Biotech.* 41, 367-374



2017-2020 Tsukuba-Plant Innovation Research Center
©つくば機能植物イノベーション研究センター



2017-2020 Plant Transgenic Design Initiative
©形質転換植物デザイン研究拠点

<https://gene.t-pirc.tsukuba.ac.jp>