

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	気孔応答の改変による高 CO <sub>2</sub> 環境における植物の炭素同化の効率化		
研究テーマ (英文)			
研究期間	2022 年 ~ 2023 年	研究機関名 国立大学法人 九州大学	
研究代表者	氏名	(漢字)	楠見 健介
		(カタカナ)	クスミ ケンスケ
		(英文)	Kensuke Kusumi
	所属機関・職名	九州大学大学院 理学研究院・講師	
共同研究者 (計 1 名) * 2名をこえる場合は、【別紙追加用紙】(P3)に3人目以降を追記してください。	氏名	(漢字)	柘宜 淳太郎
		(カタカナ)	ネギ ジュンタロウ
		(英文)	Juntaro Negi
	所属機関・職名	九州大学大学院 理学研究院・准教授	
	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	
		(英文)	
所属機関・職名			

概要 (600 字~800 字程度にまとめてください。)

本研究では、イネを材料に Gene Targeting(GT)法を用いて、気孔閉鎖を律速する気孔細胞膜チャネル SLAC1 の 2 箇所 の推定 CO<sub>2</sub> シグナル受信部位をアミノ酸置換し、高 CO<sub>2</sub> 環境下での気孔閉鎖が特異的に抑制され、CO<sub>2</sub> 取り込みが促進されるかを検証した。

その結果、イネ日本晴の内在 SLAC1 遺伝子をターゲットに、GT 法によりアミノ酸置換(Y256F、Y473F)を引き起こす2箇所の塩基置換に成功した。自殖後代から変異がホモに固定され、かつ導入遺伝子を持たない系統を再選抜し SLAC1-GT と命名した。また、対照系統として日本晴の SLAC1 破壊株を新たにCRISPR/Cas9 法により作出し、オフターゲット変異を持たないことを確認した後、slac1-CC と命名した。ガス交換測定装置を用いて気孔閉鎖応答を確認したところ、SLAC1-GT において、CO<sub>2</sub> 応答は slac1-CC と同様に低下したが、乾燥応答ホルモンである ABA への応答は野生株と同程度に維持されており(図1)、当初の狙い通り、SLAC1 の構造改変により、乾燥時の気孔閉鎖は阻害されず、高CO<sub>2</sub> 環境下での気孔閉鎖を抑制できることが示された。一方、これらの系統を高CO<sub>2</sub> (1000 ppm)に設定した閉鎖系温室で長期生育したところ、野生株に比べて分けつ数、は増大したが、成熟粒数や成熟粒重は低く、収量は増加しなかった。分けつ期の SLAC1-GT の葉の葉緑素量は最上位葉から下位葉にかけて野生株よりも急速に低下していたことから(図2)、若い植物体ではCO<sub>2</sub> 取り込みが増大するものの、葉の老化促進により生育後半では CO<sub>2</sub> 取り込みが抑制されている可能性がある。

今後は、生育期間を通じた気孔開度、光合成能の変化を検証し、また地上部の CO<sub>2</sub> 吸収の増加に対して、窒素などの無機栄養が根から十分に供給されているかを検証する必要がある。

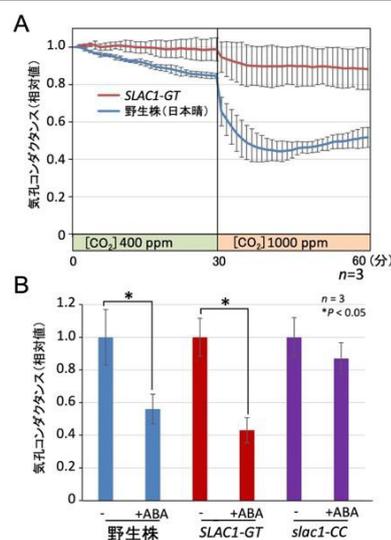


図1 SLAC1-GT系統においては、当初の狙い通り、気孔閉鎖のCO<sub>2</sub>応答(A)は抑制され、乾燥(ABA)応答(B)は維持されていた。

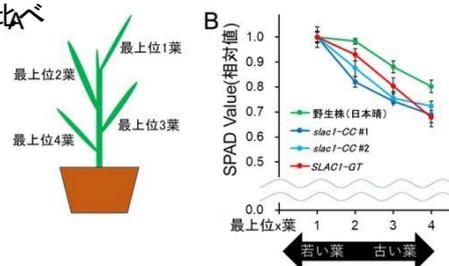


図2 SLAC1-GT系統においては、野生株と比較して、個葉の老化が促進された。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録（100 語～200 語程度にまとめてください。）

With the aim of improving photosynthetic efficiency under increased CO<sub>2</sub> concentrations ([CO<sub>2</sub>]), we examined the possibility of artificially regulating the stomatal response to elevated [CO<sub>2</sub>] using genetically modified rice plants. SLAC1 is an S-type anion channel protein that controls stomatal closure in response to elevated CO<sub>2</sub> and ABA-mediated drought signaling. We successfully introduced two mutations in the *SLAC1* gene of rice (*Oryza sativa* cv. Nipponbare) by using homologous recombination-based gene targeting. The generated rice mutant, *SLAC1-GT*, produces SLAC1 proteins with two amino acid substitutions in predicted CO<sub>2</sub> signal-receiving sites. Gas exchange measurements revealed that stomatal closure under elevated [CO<sub>2</sub>] was suppressed in the *SLAC1-GT* plants, while that under ABA treatment was comparable to the wild-type (WT) plants. When grown in the greenhouse under elevated [CO<sub>2</sub>] (1000 ppm), *SLAC1-GT* plants showed higher tiller production than the WT, but seed yield was significantly lower, as observed in the *SLAC1* knockout lines. These observations suggest that modification of CO<sub>2</sub> signal reception sites of SLAC1 can improve the CO<sub>2</sub> uptake efficiency under elevated [CO<sub>2</sub>] in rice. Still, its effect would be limited to the early seedling stages, suggesting that further precise structural modification of the *SLAC1* gene will be required.