

二国間交流事業 共同研究報告書

令和4年4月1日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[代表者所属機関・部局]
九州大学・大学院システム情報科学研究院
[職・氏名]
教授・古閑一憲
[課題番号]
JPJSBP 120194204

- 事業名 相手国: リトアニア (振興会対応機関: RCL) との共同研究
- 研究課題名
(和文) 組成制御低温プラズマを用いた種子処理に対する発芽初期段階のストレス応答
(英文) Early development of seedling stress response to seed treatment with component-controlled cold plasma
- 共同研究全実施期間 2019 年 4 月 1 日 ~ 2022 年 3 月 31 日 (3 年 0 ヶ月)
- 相手国代表者(所属機関・職・氏名【全て英文】)
Vytautas Magnus University・Prof. habil. dr.・Vida Mildaziene
- 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		4,712,500 円
内訳	1年度目執行経費	2,337,500 円
	2年度目執行経費	2,375,000 円
	3年度目執行経費	- 円

- 共同研究全実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	7 名
相手国側参加者等	5 名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

- 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1 年度目	4	0	1(0)
2 年度目			0
3 年度目			0
4 年度目			0

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣: 本委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入: 相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は本委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流実績の概要・成果等

(1)研究交流実績概要(全期間を通じた研究交流の目的・研究交流計画の実施状況等)

種子に対するプラズマ照射効果を解明するため、種子発芽段階におけるプラズマ生成活性酸素窒素種(RONS)と種子の相互作用に重要な分子種を決定するとともに、植物パフォーマンスを向上するストレスを決定する鍵となる生化学的変化ダイナミクスを明らかにすることを目的とした本研究では、以下の研究項目について検討した。(JP は日本グループ、LT はリトアニアグループを指す)

1. 大気圧低温プラズマで発生する活性種に対するガス組成と湿度の影響を明らかにする。得られた知見を基に活性種組成制御法を確立する。(JP)
2. 大気圧低温プラズマ照射後の種子内部における、ストレス応答シグナル誘起のダイナミクス明らかにする。(JP)
3. ストレス応答を誘起ダイナミクスの違いを明らかにするため、種子内植物ホルモンの産生量を変化させる重要なプラズマ生成分子種を決定する。(LT・JP)
4. プロテオーム解析と植物ホルモン分析を用いて、プラズマ照射による、酸化ストレスで産生されるカルボニル化タンパク質産生の変化と、植物ホルモン産生量の変化を明らかにする。(LT)

研究では各項目が関連して行われるため、項目に分けず、得られた研究結果について詳細を示す。

成果1) 日本においてガス組成を制御可能な密閉型のプラズマ照射装置を2台製作し、これをリトアニアと日本に設置した。リトアニアでの設置および放電の状況を図1に示す。本装置では、空気、酸素、窒素、アルゴンなどを独立して導入可能である。(対応研究項目1)

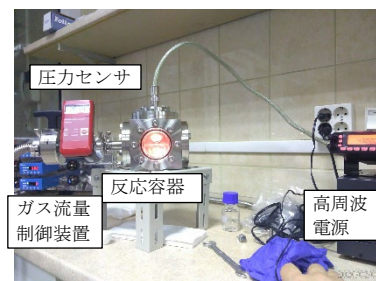


図1. リトアニアに設置したプラズマ照射装置。

成果2) 日本側において、電子スピン共鳴分光計測を用いて、カイワレダイコン種子内ラジカル種の色の影響を調べたところ、灰色の種子は種子内有機化合物関連ラジカル量が茶色に比べて多いことを明らかにした。加えて灰色の種子ではプラズマ照射により有機化合物関連ラジカル量が有意に増加すること、対して茶色の種子では有意な差は見られなかった。(図2、対応研究項目2)

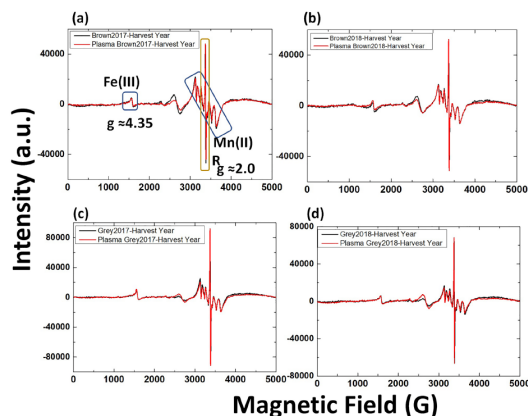


図2. 電子スピン共鳴分光を用いた計測した、カイワレダイコン種子のスペクトル。

成果3) リトアニア側ではヒマワリ種子へのプラズマ照射により、発芽と発芽後の初期成長およびホルモン産生について評価した。種子に産生するホルモンバランスがプラズマ照射により変動すること、これが播種後の発芽・成長に寄与することを明らかにした。(研究項目3, 4)

成果4) リトアニア側のホルモン産生に関する知見を基に、先のカイワレダイコン種子のプラズマ照射後のホルモン(ジベレリン酸とアブシジン酸)および抗酸化物質であるγトコフェロール量を、九州大学の液体クロマトグラフィを用いて評価した結果、植物ホルモン産生と、発芽・成長に相関があることを明らかにした。(研究項目2, 3)

成果5) また関連する研究テーマにおいて、日本側研究者は、イネ種子に対するプラズマ照射を行い、プラズマ照射が発芽関連遺伝子プロモーター領域のDNAメチレーションレベルを変動させることを明らかにした。この結果を受け、リトアニア側研究者は、オウシュウトウヒ種子へのプラズマ照射による表現型の変化の長期間観察及び、遺伝型の変動について検討した。系統によりプラズマ照射効果の発現が異なる点を明らかにした。またプラズマ照射効果が表れた477系統のオウシュウトウヒでは、色素やフェノール類、光合成特性などに変動があることを明らかにした。これらの結果は、プラズマ照射効果が遺伝型に依存する可能性を示唆するとともに、プラ

ズマ照射による病気への抵抗性の向上などが起きることを示唆している。(研究項目3, 4)

成果6) リアニア側では、上述した成果の他に、ヒマワリ種子へのプラズマ照射を行い、成長特性及び植物内微生物叢について検討した。発芽・成長特性の評価としては、出芽4日後の根と胚軸の長さ、2週間までの苗の高さ、長さ、幅を評価、花序については3か月後に評価した。その結果プラズマの適度な照射により、ヒマワリの側方機関と根の成長が9から14%促進したことを明らかにした。微生物叢の評価としては、16S rRNA メタゲノム解析を実施した。照射後、葉および子葉サンプルでマイコバクテリウム属で大きな変動が観察された。一方、根のサンプルでは、1/10に減少した。また、他にプラズマ照射後ソリモナスの存在比が大幅に増加したことを明らかにした(図3)。またプロテオミクス分析から、プラズマ照射により変動した67のプロテオフォームの内、26がアップレギュレートし、41がダウンレギュレートすることを明らかにした。これらの変動は低強度のストレス刺激応答に関わるもので、プラズマ照射による植物関連微生物叢の変動に関連している可能性を明らかにした。

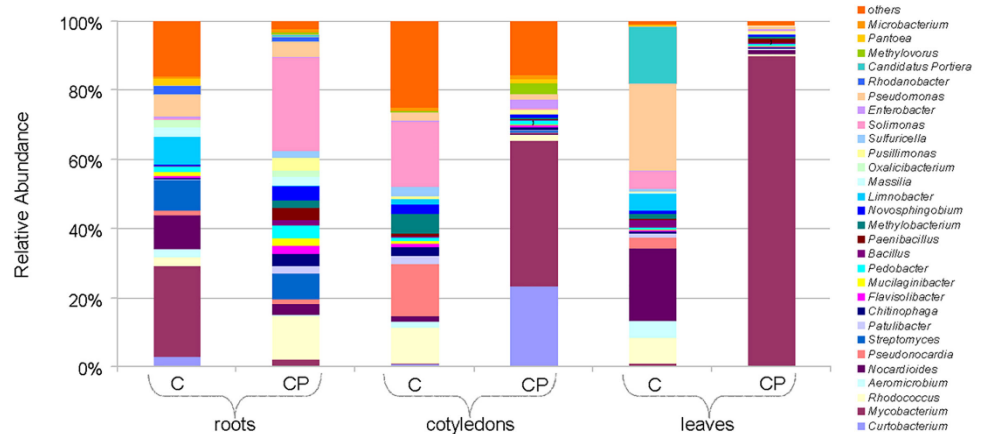


図3. メタゲノム解析から得た、微生物組成の比較。

得られた成果について国内外の研究者と討論するため、1年目には、広島県(11月)、大分県(2月)に出張した。加えて、日本で製作した装置の設置・運転と得られた結果の討論と今後の研究計画についての打ち合わせのため、古閑が9月、2月、3月に、朽津が3月にリアニアに訪問した。研究期間中、2年目以降はコロナウィルスまん延状況への対応のため、日本側研究者の渡航およびリアニア側研究者の受け入れが不可能となった。対面による実験や打合せが出来なくなった期間中は、オンラインやメール等を用いて打合せを行い、共同研究実施には大きな影響なく実施した。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

本研究交流において得られた知見の学術的価値としては、植物種子へのプラズマ照射効果について、それまでプラズマ照射による発芽率や体長などの評価が多かったのに対して、植物ホルモンの産生や、タンパク質の産出など、植物内部の分子生理に初めて踏み込んだ点に学術的価値を持つ。例えば、プラズマ照射によるホルモンバランスの変動が種子へのプラズマ照射のみで起きる点、遺伝型の違いによりプラズマ照射効果が異なる可能性があることは、今後のプラズマ照射研究の検討に重要な知見となる。また今回の共同研究成果により、植物系の研究者がプラズマを用いた成長促進効果に興味を持つ契機になった点についても、その波及効果としての価値も高い。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

本研究により、日本側、リアニア側に同じ装置を設置して共同研究を実施したことは、それぞれが得意なプラズマ評価と植物生理評価を分担することで、研究遂行のスピードを加速可能にした点は成果と言える。

今回報告した成果については、そのほとんどが準備期間に設置したスケラブル誘電体バリア放電を用いた研究結果であり、今回の共同研究で設置した装置についての成果については現在その結果を論文としてまとめているところである。

また各研究機関で得た結果を基に研究成果が発展していった。例えば、リトアニア側で得たプラズマ照射効果によるホルモンバランスの変動の知見を用いて、日本側でカイワレダイコン種子へのプラズマ照射の効果について、ホルモンバランスを評価する契機となった点、日本側のDNAメチレーションレベルの変動の結果を契機としてプラズマ照射効果に対する遺伝型の依存性の議論が深まった点、など相手国との交流による成果と言える。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

本研究では、食糧・環境問題などへの貢献が期待できる。発芽・成長促進は、植物バイオマス増産と捉えることができる。従来肥料などを用いていたバイオマス増産であるが、肥料作製時のCO₂排出や肥料の土壌残留による環境影響が懸念されている。これに対してプラズマ照射は種子への数分間の照射のみでよく、環境にやさしい技術である。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取り組み、成果)

本研究当初から、若手研究者である奥村助教が研究に参加したことは成果の一つとして挙げられる。また奥村助教は、グループ参加以前は液体クロマトグラフィの取り扱いはなかったが、本共同研究を契機に測定装置の使用に習熟、定量性の高い測定が可能になった。

(6)将来発展可能性(本研究交流事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

本共同研究による学術的成果である、プラズマ照射による植物分子生理の結果は、今後、プラズマ照射効果の機序を明らかにするうえで重要な情報となり、プラズマ照射効果を分子レベルで評価する研究分野へと発展する。

加えて、プラズマ照射による微生物叢の変動については、今まで種子や植物のみにスポットライトが当てられてきたプラズマ照射効果の研究において、植物の周囲の生活圏全体を統合的に解析するという観点を新たに取り入れる契機となる重要な成果であり、将来的な発展性を持つものである。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記述してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞、産業財産権の出願・取得など

該当なし。