

接木が誰でも簡単に！

～ 芽生えの接木を効率化する接木チップの開発 ～

名古屋大学生物機能開発利用研究センターの野田口 理孝准教授と筒井 大貴研究員らの研究グループは、これまで熟練した技術が必要であったモデル植物シロイヌナズナの極めて小さな芽生えの接木（マイクログラフティング）を誰でも簡単に行なうことのできる「接木チップ」を新たに開発しました。

植物は、様々な環境への応答を全身的なシグナル伝達によって調節していることが近年の植物科学の研究で明らかとなっています。それらの研究に有効な研究手法が、シロイヌナズナのマイクログラフティング法でした。しかし、種子から発芽して数日後の若い芽生え（茎の太さは、0.2～0.3 mm）を用いた接木で、技術的には大変に困難でした。今回、研究グループは、電子回路を作る際に使う微細加工技術 MEMS を接木に応用し、オンチップで植物を保持して接木することのできる接木保持具となる接木チップを開発しました。既に国内外の他の研究グループとの間では本技術を活用した共同研究が進められており、植物科学分野で新たな研究成果が生まれることが期待されます。「接木チップ」は、理化学研究機器・消耗品を取り扱う株式会社バイオメディカルサイエンスより近日販売予定です。

本成果は農業分野で応用展開もされ、名古屋大学発ベンチャー グランドグリーン株式会社では、トマト栽培に使用される接木苗の生産を効率化する「接木カセット」が開発されました。接木カセットは、今春より試用販売が開始されています。

この研究成果は、令和2年4月13日付英国科学雑誌「The Plant Journal」にて公開されました。

この研究は、科学技術振興機構（JPMJER1004, 15657559, 15665754）、科学研究費助成事業（18KT0040, 18H04778, 18H03950）、公益財団法人キヤノン財団（R17-0070）の支援のもとで行われたものです。

【ポイント】

- 研究用途として、シロイヌナズナ芽生えを用いた接木法を簡便化・均一化・効率化する「接木チップ」を開発
- 環境条件（糖の外的投与、温度）による接木の効率への影響を評価
- 植物の生育に必須な微量栄養素の一つである鉄（Fe）の輸送には、地上部と地下部間のニコチアナミンあるいはニコチアナミン/鉄複合体の移動が重要
- 応用展開として、トマト接木苗の生産を効率化する「接木カセット」が名古屋大学発ベンチャー グランドグリーン株式会社により開発された

【研究背景と内容】

植物は、様々な環境への応答を全身的なシグナル伝達によって調節していることが近年の植物科学の研究で明らかとなっています。それらの研究に有効な研究手法が、シロイヌナズナのマイクログラフティング法でした。この接木法を利用して、これまでに花を咲かせるホルモンのフロリゲン (Science, 2007)、窒素吸収を促進するペプチド (Science, 2017)、乾燥ストレス耐性を促進するペプチド (Nature, 2019) といった、植物科学における大きな発見が生まれました (図1)。しかし、種子から芽生えたばかりの極めて小さな植物体を用いた接木は、手先の器用さと熟練した技術が必要であったため、多くの研究者が利用を諦めてしまう場面もありました。この技術的な制約を受けて、当時からマイクログラフティングの専門家であった野田口准教授は、

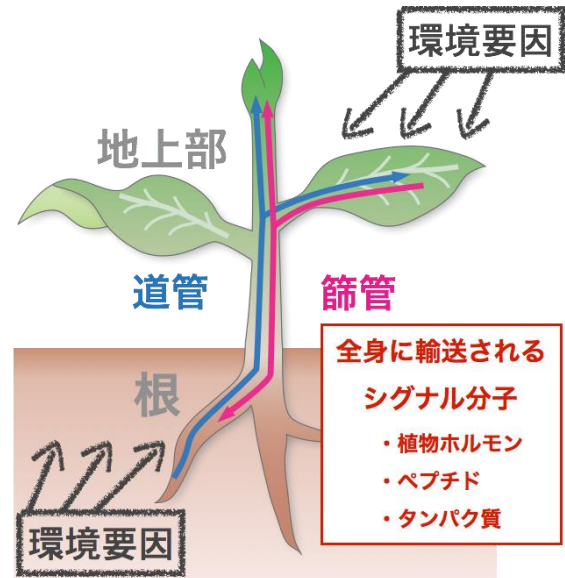


図1 植物の全身的なシグナル伝達

この技術的な制約を受けて、当時からマイクログラフティングの専門家であった野田口准教授は、微細加工の専門家との共同研究で、植物の成長様式に照らし合わせた微細構造を MEMS 技術^{注1}に基づき設計することで、簡便に接木ができるチップの開発に着手しました。

開発した接木チップは、可変性の PDMS 樹脂^{注2}で成形されており、植物の成長に合わせて変形するため個体ごとのばらつきを吸収し、画一的に芽生えを扱うことができます。このチップ上で、種子の発芽から、植物の成長、接木までの一連のプロセスを完了することができます。各ユニットは、種子を蒔くための種子ポケットと、その上部に茎が伸長するマイクロ通路と、種子ポケットの下部には根が伸長するための領域を持ちます。このユニットが4つ並んだものが接木チップです (図2)。

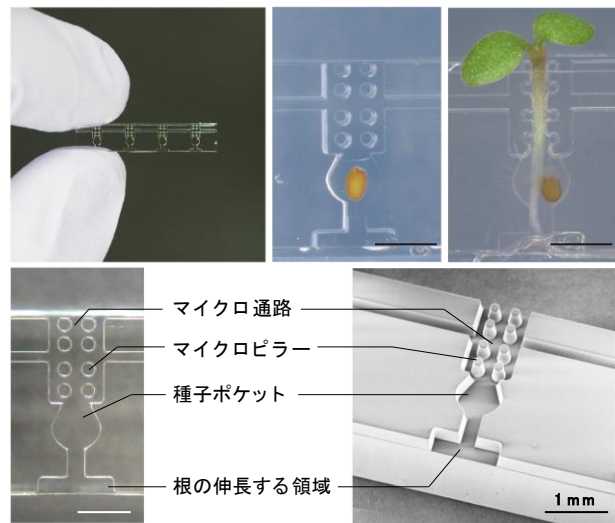


図2 接木チップ

マイクロ通路は、マイクロピラー (円柱状の柱) が対になって並ぶことで構成され、その内側に芽生えの茎が伸長します。この間、植物は暗所で育てられ、もやしのように真っ直ぐに成長します。茎の先端がチップの内部構造の先まで到達したら、次に植物を明所に移して育てます。光に当てることで葉が展開し、接木の準備が整います。対になるマイク

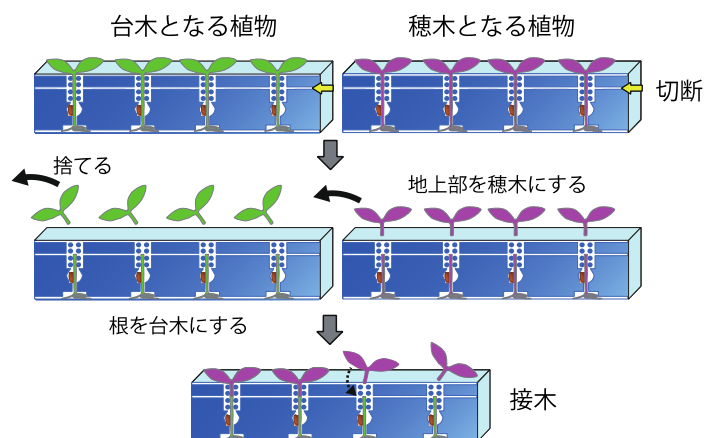
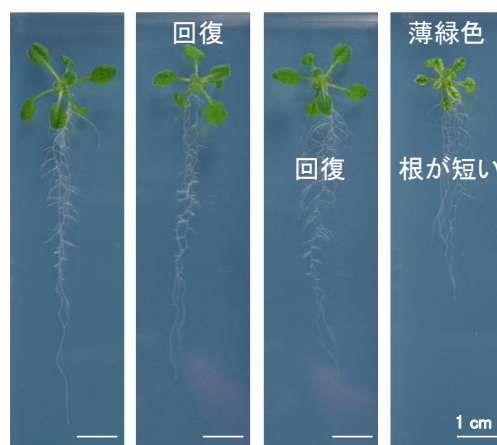


図3 接木チップを用いたマイクログラフティング

ロピラーは、茎の太さよりも幅が狭くなるように配置されており、どの植物体もマイクロピラーを両脇に押し広げながら茎を上方向へと伸長させます。茎の伸長後は、対をなすマイクロピラーにより茎が両側から挟まれた状態となるため、接木をする際も植物体の位置は固定されて動かない状態としておくことができます。接木は、二つの植物体の茎を切断して、根の部分（台木）と地上部にあたる部分（穂木）をつなぎ合わせて行います。まず台木を、チップ上で茎を切断して地上部を除くことで用意します。続けて、別のチップ上で育てておいた植物から茎を切断して穂木にあたる地上部を用意し、台木の上に移します。穂木と台木の切断面を合わせれば接木の操作は完了です（図3）。接木をした後は、上側の台木と下側の穂木の茎はマイクロピラーによってその位置を保持されますので、安定して接木ができるというわけです。

実際に開発した接木チップを使用して、経験の少ない3人の試験者がマイクログラフィティング実験を試みたところ、接木の成功率は40~60%であり、熟練者と大きな違いはありませんでした。さらに接木チップを使用して、これまでに議論されてきた糖や温度が接木に及ぼす影響を調べたところ、糖を根から与えると接木が成立しやすくなること、温度を通常の育成温度よりも高くすると接木が成立しやすくなることを実験的に示すことができました。

本研究ではさらに、必須栄養素のうちの一つである鉄について、その吸収と全身への分配機構について検討しました。鉄はニコチアナミンと錯体^{注3}を形成することで輸送されますが、個体のどこでニコチアナミンが働いているかは不明でした。本研究では、ニコチアナミンを合成できない *nas4x-2* 変異体と野生型の接木実験より、ニコチアナミンが全身で作られていることが、鉄の恒常性を維持する上で重要であることが示されました（図4）。



野生型 *nas4x-2* 野生型 *nas4x-2*
野生型 野生型 *nas4x-2* *nas4x-2*

図4 野生型とニコチアナミン合成変異体 *nas4x-2* の接木

nas4x-2 変異体の表現型が、野生型との接木によって回復した様子。

【成果の意義】

近年の植物科学は、植物の個体の中の各々の分子について「どこで作られ、どこに運ばれるか」「どこでどのように働くか」を調べる研究が主流となり、シロイヌナズナにおける接木技術は分子生物学的な研究を進める上でも重要な実験手法となりつつあります。これまでは、研究者が鍛錬を重ねることで微小な芽生えを顕微鏡下で接木していましたが、多くの実験者は技術習得の難しさから諦めてしまうこともありました。本研究では、困難であったシロイヌナズナ芽生え接木（マイクログラフィティング）を誰でも容易に、かつ均一性高く行うことのできる技術として「接木チップ」を提供し、今後の植物科学分野の発展に貢献するものです。

また、植物科学研究にとどまらず、トマト接木苗の生産を効率化する「接木カセット」の開発にも結びつき、農業分野での応用展開も期待されます。野菜接木苗は、土

壤病害から苗を守る効果があり、生産リスクを低減するとともに、減農薬により環境リスクを低減することからも普及が望まれています。しかし、野菜接木苗は熟練者の手で生産されることが主であったため、その生産は日本を含むアジア圏の一部とオランダなどの農業先進国でしか十分に活用されていませんでした。本技術が普及することで、世界の食の安全と農業の持続可能性が高まることを期待したいと思います。

【用語説明】

- 注1) MEMS 技術: Micro Electro Mechanical Systems (微小電気機械システム) は、基板上に様々な機能を集積化する微細加工技術の総称です。
- 注2) PDMS 樹脂: poly(dimethylsiloxane) (ポリジメチルポリシロキサン) 樹脂は、シリコン樹脂の一種であり、生体適合性が高くマイクロメートルスケールの微小な形状に入り込むことが可能であるため、MEMS 技術に置いて多用されます。
- 注3) 錯体: 金属と非金属の原子が結合した構造を持つ化合物 (金属錯体) を指します。ここでは、金属である鉄 (Fe) とそのキレート化合物であるニコチアミンの結合したものが錯体となります。

【論文情報】

雑誌名 : The Plant Journal

論文タイトル : Micrografting device for testing systemic signaling in Arabidopsis

(シロイヌナズナにおける全身性シグナル伝達機構を研究するための接木チップ)

著者 : Hiroki Tsutsui, Naoki Yanagisawa, Yaichi Kawakatsu, Shuka Ikematsu, Yu Sawai, Ryo Tabata, Hideyuki Arata, Tetsuya Higashiyama, Michitaka Notaguchi

(筒井 大貴、柳澤 直樹、川勝 弥一、池松 朱夏、澤井 優、田畑 亮、新田 英之、東山 哲也、野田口 理孝)

DOI: [10.1111/tpj.14768](https://doi.org/10.1111/tpj.14768)