

植物の生育状態を野外で早期診断できる装置を開発 ～ストレスに応答して生じる miRNA を葉から検出～

【本研究のポイント】

- ・植物がストレス応答時に発現する micro-RNA (miRNA)^{注1)}を、葉の搾汁液から簡易に検出することができるマイクロ流体デバイス^{注2)}を開発した。
- ・このデバイスによって、トマトのリン欠乏ストレスを早期診断し、ストレス症状を回避させることに成功した。
- ・野外の栽培現場でも簡便に生育状態を診断できる可能性を持つ技術として、農業の効率化を通して食料問題などの解決に貢献することが期待される。

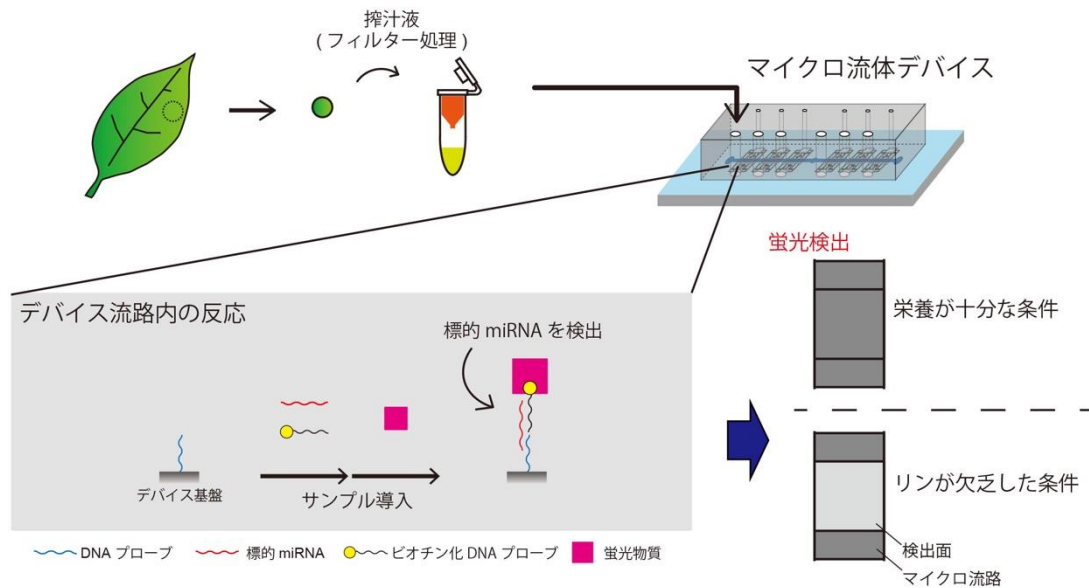
【研究概要】

名古屋大学生物機能開発利用研究センターの川勝 弥一 研究員、岡田 龍 研究員、同大学大学院工学研究科の原 光生 助教、同大学 未来社会創造研究所 ナノライフシステム研究部門の有馬 彰秀 特任講師、京都大学大学院理学研究科の野田口 理孝 教授（兼：名古屋大学生物機能開発利用研究センター 特任教授）らの研究グループは、植物の生体分子である micro-RNA (miRNA)を簡易検出することで、生育状態を個別診断できるマイクロ流体デバイスを開発しました。

植物は環境変化に対して様々な生体分子を発現することで、ストレスに適応しています。我々の研究グループは、植物がストレスへの初期応答で発現する生体分子を検出することで、生育状態の早期診断が可能であると考えました。本研究では、生体分子の一つである miRNA を簡易検出するマイクロ流体デバイスを開発し、それをを用いてトマトの栄養状態を診断することに成功しました。開発したデバイスは、植物の搾汁液をデバイスに導入することで、標的となる miRNA を検出することができます。本技術を用いて、土壌の栄養素であるリンが欠乏した際に発現する miRNA である miR399 の検出を行なった結果、リン欠乏条件で生育したトマトから強いシグナルが検出され、リン欠乏状態であると診断できました。加えて、リン欠乏と診断されたトマトをリンが十分な条件に切り替えることで、ストレス障害を回避することができました。開発したデバイスは小型で、必要な操作は溶液の導入だけであるため、野外の栽培現場でも利用できる可能性があります。本研究の成果は、植物の生体分子を検出することで、ストレス症状が生じる前の早期段階で生育状態を診断できる技術として期待されます。

この研究成果は、2024年4月3日付国際誌「Plant Phenomics」に掲載されました。

植物の搾汁液からの miRNA の検出



【研究背景と内容】

生存場所を移動できない植物は、周囲の環境に応答して様々な生体分子を発現することで、環境の変化に適応しています。環境変化への応答に関わる生体分子に、miRNA が知られています。この miRNA を簡易に検出することができれば、植物の環境に対するストレス状態を診断し、栽培管理に利用できると考えました。しかし、miRNA の検出には毒劇物を用いたサンプルの調整や高度な実験技術が必要であり、解析結果を栽培管理に利用することは困難でした。

本研究では、マイクロ流体デバイス技術を用いて、miRNA を簡易検出するデバイスを開発しました(図1)。開発したデバイスは、フィルターでろ過した植物の搾汁液をデバイス内の流路に導入することで、標的となる miRNA を検出することができます。デバイスの流路内には標的となる miRNA と特異的に結合する DNA プローブ^{注3)}が固定化されており、標的となる miRNA が存在する場合、それを介してビオチン化 DNA プローブ^{注4)}が結合します。このビオチン化 DNA プローブに蛍光物質(アレクサストレプトアビジン)が結合することで、標的となる miRNA が蛍光検出できます(図1)。

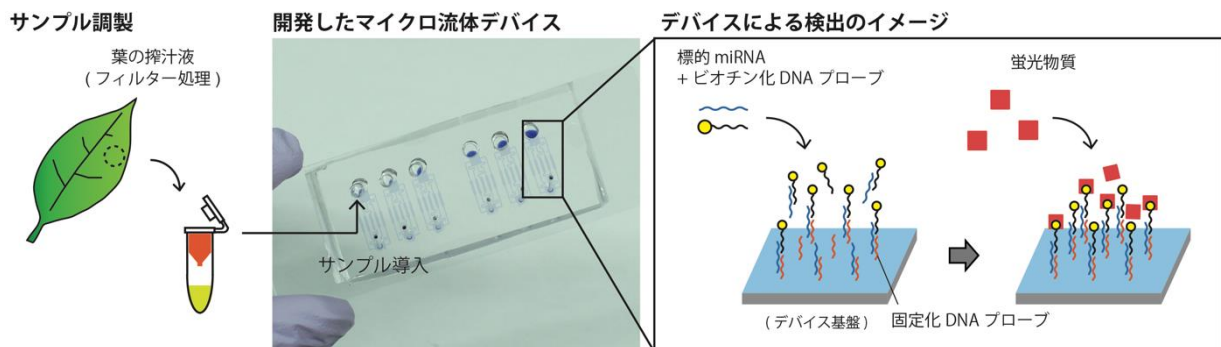


図1 開発したマイクロ流体デバイスおよびその標的 miRNA の検出イメージ。
本技術を用いて、トマトの葉の搾汁液から miRNA である miR399 を検出する実験を

行いました(図2)。miR399 は、土壌の栄養素であるリンが欠乏した際に発現する生体分子であることが知られています。デバイスによる検出を行なった結果、リンが不足した条件で育てたトマトからは、リンが十分な条件で育てたトマトと比べて検出シグナルが有意に上昇しました(図2右上グラフ)。ここで、リン不足と診断されたトマトを通常の条件で2日間育ててから、再度デバイスによる診断を行なった結果、miR399 の検出シグナルは減少しました(図2右下グラフ)。これらのデバイスによる miR399 の検出結果は、既往の miRNA の検出方法である qRT-PCR の結果と一致したことから、開発したデバイスはストレス応答による miR399 の発現変動を検出していることが示されました。さらに、ストレス診断後のトマトを育て続けた結果、リン欠乏条件で育て続けたトマトはストレス障害を示した一方で、生育条件を切り替えたトマトは通常栽培と同様に生育させることができました(図2左)。このように、本技術は植物のストレス障害が顕在化する前に早期診断する技術として期待できます。

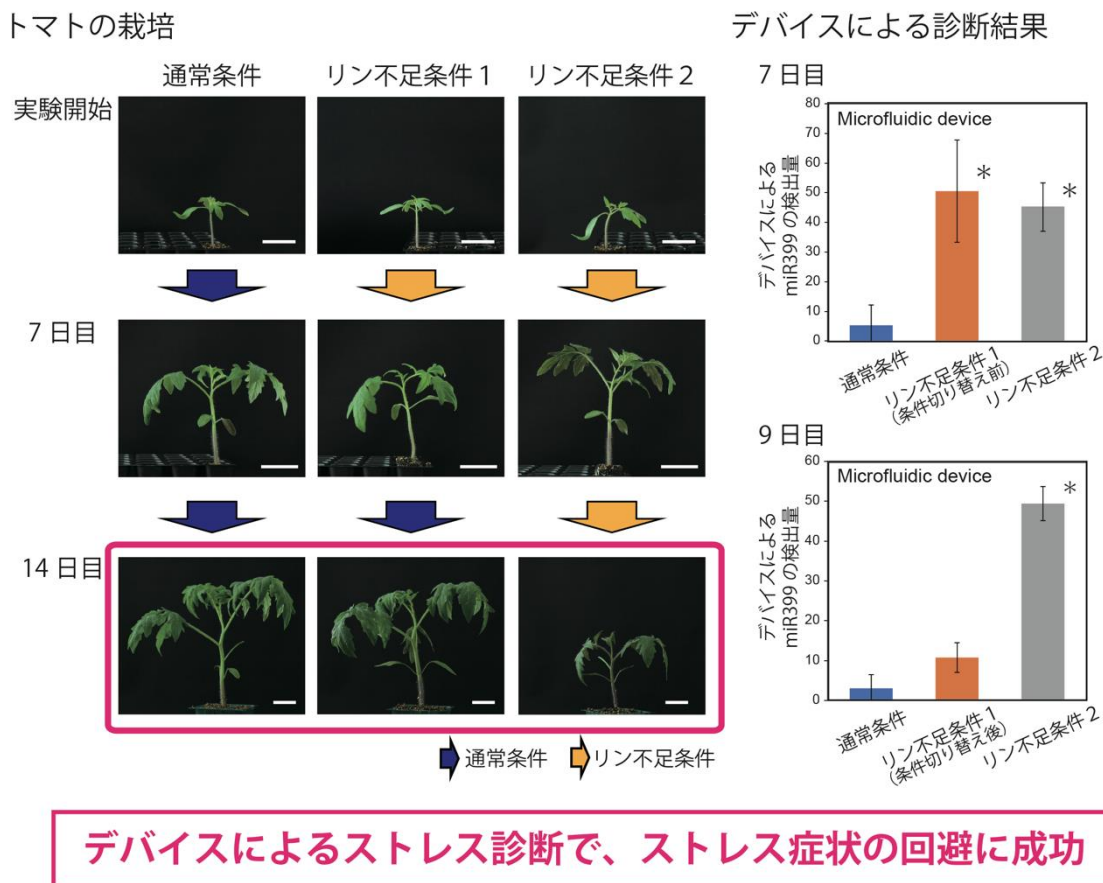


図2 開発したデバイスを用いた、リン不足条件で育てたトマトのストレス診断および栽培管理。

【成果の意義】

食料問題や農業の持続可能性の問題に対して、栽培管理による効率的かつ合理的な農

業技術が注目されています。今回、植物の生体分子である miRNA を検出することで、植物の簡易生育診断を行うデバイスの開発を行いました。生体分子の検出による生育診断は、ストレス初期の診断が可能であるため、迅速かつ客観的な指標による効率的な栽培管理に利用できると考えられます。また、本成果はヒトの健康診断のように、植物のストレス状態を個別診断するという、新たな栽培管理のアプローチとなることが期待されます。植物の生体分子を簡易検出し、植物の生育状態を診断する研究が、今後予想される様々な農業課題の解決に貢献することを期待しています。

【用語説明】

注1)micro-RNA (miRNA):

遺伝子の発現を抑制する機能を持つ、18-25 塩基程度の短い配列を持つ一本鎖 RNA。

注2)マイクロ流体デバイス:

微細な流路を有するデバイス。少量の流体を通して移動させることができる。

注3)DNA プローブ:

標的となる RNA と結合する配列を有する一本鎖 DNA。

注4)ビオチン化 DNA プローブ:

低分子化合物であるビオチンが結合した一本鎖 DNA。本研究で用いた蛍光物質であるアレクサストレプトアビジンは、ビオチンと強固な結合を形成する。

【論文情報】

雑誌名:Plant Phenomics

論文タイトル:Microfluidic device for simple diagnosis of plant growth condition by detecting miRNAs from filtered plant extracts

(植物の搾汁液からmiRNAを検出し、植物の生育状態を簡易診断するマイクロ流体デバイスの開発)

著者:Yaichi Kawakatsu, Ryo Okada, Mitsuo Hara, Hiroki Tsutsui, Naoki Yanagisawa, Tetsuya Higashiyama, Akihide Arima, Yoshinobu Baba, Ken-ichi Kurotani, Michitaka Notaguchi* (*責任著者)

DOI:10.34133/plantphenomics.0162

URL: <https://spj.science.org/doi/10.34133/plantphenomics.0162>

【著者所属】

名古屋大学生物機能開発利用研究センター(川勝 弥一、黒谷 賢一、野田口 理孝)

名古屋大学大学院生命農学研究科(岡田 龍、筒井大貴)

名古屋大学大学院工学研究科(原 光生、馬場 嘉信)

名古屋大学大学院理学研究科(柳沢 直樹)

名古屋大学トランスフォーメティブ生命分子研究所、東京大学大学院理学系研究科(東山 哲也)

名古屋大学 未来社会創造研究所 ナノライフシステム研究部門(有馬 彰秀、馬場 嘉信)
量子科学技術研究開発機構(馬場 嘉信)
京都大学大学院理学研究科(野田口 理孝)

【研究費】

- ・科学研究費助成事業(JP21H05657, JP22H04536)
- ・科学技術振興機構(ERATO JPMJER1004, PRESTO 15665754, CREST JPMJCR15O2, SCORE 2110336, START 2210365)
- ・NARO バイオ研究推進機構(SBIR 21488775)