

「環境変動に対する植物の頑健性の解明と応用に向けた基盤技術の創出」

H28 年度
実績報告書

平成 27 年度採択研究代表者

柳澤 修一

東京大学生物生産工学研究センター
准教授

フィールド環境での栄養応答ネットワークによる生長制御モデルのプロトタイプ構築

§ 1. 研究実施体制

(1)「柳澤」グループ

① 研究代表者: 柳澤 修一 (東京大学生物生産工学研究センター、准教授)

② 研究項目

- ・ リン酸吸収のイメージングを用いた栄養応答性の異なるシロイヌナズナのエコタイプの選抜
- ・ リン酸吸収のイメージングを用いた栄養応答性の異なるイネ栽培種の選抜
- ・ 野外で栽培した栄養応答性の異なるシロイヌナズナとイネのオミクス解析
- ・ シロイヌナズナとイネにおける栄養応答システム間のクロストークの比較解析

(2)「射場」グループ

① 主たる共同研究者: 射場 厚 (九州大学大学院理学研究院、主幹教授)

② 研究項目

- ・ ハイスループットサーマルイメージングを用いた栄養応答性の異なるシロイヌナズナ エコタイプの選抜
- ・ 野外で栽培した栄養応答性の異なるシロイヌナズナ エコタイプのオミクス解析
- ・ シロイヌナズナにおける窒素応答とCO₂取り込み機能のクロストークの比較解析

(3)「宮尾」グループ

① 主たる共同研究者: 宮尾(徳富)光恵 (東北大学大学院農学研究科、教授)

② 研究項目

- ハイスループットサーマルイメージングを用いた栄養応答性の異なるイネ栽培種の選抜
- 野外栽培による栄養応答性の異なるイネ栽培種の比較解析
- イネ栽培種を用いた窒素応答と CO₂ 取り込み機能のクロストークの比較解析

§ 2. 研究実施の概要

独立栄養生物である植物は外界から様々な無機物を栄養素として吸収し、有機物を合成して生長しているので、外界の無機物の量とバランスが植物の生長に根本的な影響を及ぼす。特に多量必須元素である窒素とリンの存在量とバランスが重要である。これらの元素はフィールド環境で偏在しており、また、その存在量は変化するため、植物はそのような栄養環境に適応して栄養代謝のホメオスタシスを維持して生長しなければならない。このため、これらの栄養素に対する応答システムと、さらには、それらによって構築される応答ネットワークによって栄養応答が最適化されていると考えられるが、フィールド環境でそのようなシステムと応答ネットワークがどのようにはたらき、植物の生長を制御しているかは明らかにされていない。「遺伝的背景の多様性に基づいて栄養応答に差異が見られる植物集団から栄養応答に関して特徴が見られるものをハイスループットスクリーニングにより選び出し、それらのフィールド環境における栄養応答の制御を分子レベルで定量的に精査する」という新しいアプローチによって、栄養応答ネットワークによる生長制御モデルのプロトタイプを構築することが本研究課題の目的である。本研究によって、「窒素、リン代謝の制御ネットワークの完全理解による第二の緑の革命を先導する革新的次世代基盤技術の創出」につながる成果が期待される。

上記目的達成の初段階として、本年度はシロイヌナズナのエコタイプ 200 系統およびイネ栽培品種 119 系統を母集団として、元素吸収を可視化したスクリーニング法 (^{32}P または ^{33}P で標識されたリン酸イオンの取り込みのイメージング化) によりリン獲得能力の遺伝的多様性を調べた。シロイヌナズナのエコタイプはリン十分条件とリン欠乏条件の 2 つの条件で生育させた植物体を用いてリン酸吸収能力を調べ、エコタイプ間で吸収能力に約 4 倍程度の違いがあること、リン飢餓によるリン酸吸収能力の誘導についてもエコタイプ間で約 6 倍程度の違いがあることを明らかにした。このような量的形質に基づく GWAS (Genome Wide Association Study) によって、複数の遺伝子座がリン酸吸収能力やリン飢餓応答に関わっていることを示した。さらに、2 つのエコタイプでリン酸吸収能力が低い理由を調べ、これらのエコタイプでは標準のエコタイプとして使用している Col-0 とは光シグナル伝達能力に違いが見られ、それによってリン酸吸収能力が影響を受けていることを明らかにした。これによって、栄養応答ネットワークを構成する大きな要素の一つを同定するとともに 1 遺伝子の自然突然変異がシロイヌナズナの栄養応答のエコタイプ間での相違を生み出し得ることを明らかにした。

イネに関しては、標準栄養条件、リン欠乏条件、窒素欠乏条件の 3 つの栄養条件で生育させた植物体のリン酸吸収能力を評価し、シロイヌナズナのエコタイプ間で見られたように、イネ品種間でも遺伝的多様性に基づいたリン酸吸収能力、リン飢餓応答、窒素飢餓応答の違いがあることを確認した。これらの量的形質に基づく GWAS の結果、リン酸吸収能力やリン飢餓応答を指標とした場合に比べ、窒素飢餓応答を指標とした場合は明確に関連遺伝子座が推定されず、窒素飢餓応答に基づくリン獲得能力の調整に関わる遺伝子座の特定を GWAS によって行うことは難しいと判断した。これらの結果に基づいて、次年度のトラスクリプトーム解析に使用するシロイヌナズナのエコタイプとイネ品種の選抜を進めている。

遺伝的多様性によって、窒素応答と CO₂ 取り込み機能のクロストークが影響を受け、その結果として、栄養応答が異なっているシロイヌナズナのエコタイプとイネ栽培品種の選抜も実施した。CO₂ 吸収のための気孔の開度は葉の表面温度に影響を及ぼすので、栄養の利用効率に合わせて葉の表面温度が変化することが考えられることから、サーモグラフィによる熱画像を解析した。この手法は、イネの窒素栄養環境に基づく応答を調べるには有効であったが、シロイヌナズナの場合には適切なスクリーニングシステムとして機能しないことが判明した。これは、個体サイズの小さなシロイヌナズナが窒素飢餓により更に小さくなると、熱画像から得られるデータの信頼性が低くなるためである。そこで、シロイヌナズナのエコタイプについては、CO₂ 応答性の解析を併用しつつ、通常窒素条件と低窒素条件での生育比較によって選抜することとし、およそ 100 系統の地上部の乾重量、根の乾重量、根と地上部のバイオマス比を調べた。得られた結果に基づいて GWAS も実施し、関連遺伝子座の抽出を進めた。イネの品種間差については、119 品種を水田で栽培し、イネ品種の選抜における熱画像解析の有効性を検討するとともに、植物体のバイオマスの指標として水田で栽培したイネの登熟後の乾物重(わら重と穂重)を計測した。その結果、基準品種としたノヒカリより葉温が 17 品種で低く、3 品種で葉温が高いことがわかった。イネ品種間差は野外で得られたデータであるため、複数年の比較解析が必要であるが、これらの結果に基づいて、次年度のトラスクリプトーム解析に使用するシロイヌナズナのエコタイプとイネ品種を選抜した。

フィールド環境における栄養応答を分子レベルで定量的に精査するためには、個々の応答メカニズムの分子レベルでの解明が必須である。硝酸応答は栄養応答ネットワークの要であるが、その分子メカニズムは確立していなかった。そこで、硝酸応答の分子メカニズムの全貌を解明し(図 1)、論文公表を行った(*Nature*, 545: 311-316, 2017)。

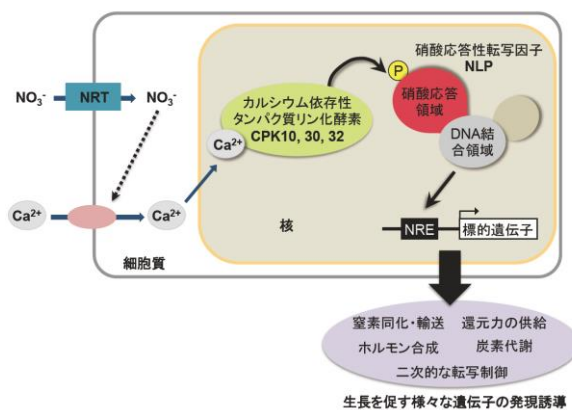


図 1. 硝酸応答の分子メカニズムのモデル図
硝酸イオンの取り込みに合わせてカルシウム依存的タンパク質リン酸化酵素が活性化され、NLP 転写因子をリン酸化する。これにより活性型となった NLP 転写因子が関連遺伝子の発現を一括して誘導する。