

「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」

平成 27 年度採択研究代表者

H29 年度 実績報告書

柳澤 修一

東京大学生物生産工学研究センター
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、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(野生系統)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(野生系統)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(野生系統)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

植物は様々な無機物を栄養素として吸収し、有機物を合成して成長しているので、外界の無機物の量やバランスが植物の成長に根本的な影響を及ぼす。植物は、異なる栄養環境や栄養環境の変化に対して頑健性を持ち、成長を最適化していると考えられる。本研究課題では、特に重要な栄養素である窒素とリンの獲得において、植物が持つ頑健性に対して遺伝的要因がどのように影響しているのかを解明することを目標としている。この研究は、将来的には「栄養の乏しい環境や特定の栄養環境に適応した植物の創出技術」や「テーラーメイドな植物栽培技術」の開発に至るものである。

この目標に向けて、栄養応答において多様な遺伝的バックグラウンドを持つ植物の母集団(シロイヌナズナ野生系統の集団とイネ栽培品種の集団)から、特異な栄養応答を示す系統を選抜し、これらの植物体間における栄養応答ネットワークのゲノムワイドな発現比較解析と関連する遺伝的要因の抽出を進めてきた。平成 29 年度は、様々なフェノーム解析を昨年度に引き続き実施し、QTL マッピングによる優良アリの同定に使用する系統の選抜を行った。さらに、応答ネットワークのモデル構築に向けたゲノムワイドな発現解析 (RNA-seq 解析とマイクロアレイ解析)を開始するとともに、応答ネットワークに大きな影響を及ぼす遺伝子の同定を開始した。

具体的には、イネ 12 品種と安定同位体元素 ^{15}N を用いた硝酸イオンとアンモニウムイオンの取り込み実験を行い、窒素栄養の吸収に関する品種間差を確認した。この解析結果と平成 28 年度までに完了したリン酸吸収実験の結果を総合的に判断し、イネ・コアコレクション全 119 品種から 20 品種を選び、通常条件および低窒素条件で育成された植物体の根から RNA サンプルを得て、RNA-seq 解析を行った。トランスクリプトームに窒素栄養状態や品種間差が強く反映されていることを確認して、栄養吸収と栄養応答性の品種間差を説明するため、現在、それらのネットワーク解析を進めている。また、圃場での栽培評価から窒素応答性が大きく異なると推定された 8 品種についてトランスクリプトーム解析も実施し、クラスター解析も行った。違った選抜方法によって選ばれたイネ品種の解析結果は、遺伝子発現のネットワーク解析を行う段階で統合していく予定である。

シロイヌナズナの野生系統を用いた解析については、平成 28 年度までに異なる栄養環境で生育させたシロイヌナズナの野生系統のフェノーム解析(各々のフェノーム解析に 200 から 240 系統を使用)を行い、その結果を用いたゲノムワイド関連解析 (GWAS) から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てきた。平成 29 年度は、栄養応答の鍵を握る遺伝的要因の抽出を目指し、以下の解析を進めた。GWAS 等により遺伝子が推定されたものについては(現在、2 遺伝子)、変異株や過剰発現株の解析により、主働遺伝子としての機能の確立を進めた。また、低窒素環境での生育が良い、リン栄養の吸収能力が高い等の栄養獲得における優良形質を示す系統は優良アリを有していることが期待されるので、優良アリの QTL マッピングを開始し、また、この系統を用いたトランスクリプトーム解析も実施した。

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。特に重要な硝酸態窒素への応答制御の分子メカニズムの解明を進め、NLP 転写因子と NIGT1 転写因子から構成される転写カスケード介した、変動する硝酸態窒素の量に成長量を最適化するための応答機構のモデルを構築した。また、リン飢餓応答を担う転写因

子による NIGT1 活性の調節を示して、窒素栄養とリン栄養という二つの大きな栄養条件に基づいて、硝酸態窒素の取り込みが制御されている分子機構を示した。これらのシロイヌナズナの栄養応答の分子的メカニズムに基づいた数理モデリングも開始した。まず、栄養応答の各制御経路を Hill 方程式に基づいてモデル化し、硝酸輸送体遺伝子の発現パターン of 数理モデルを構築した。この数理モデルから予測される発現パターンの挙動をマイクロプレートで育てられた幼植物を用いた検証し、数理モデルの妥当性の評価を行う予定である。

代表的な原著論文

1. Maeda, Y., Mineko M., Kiba, T., Sakuraba, Y., Sawaki, N., Kurai, T., Ueda, Y., Sakakibara, H., and Yanagisawa, S. (2018) A NIGT1-centered transcriptional cascade regulates nitrate signalling and incorporates phosphorus starvation signals in Arabidopsis. *Nat. Commun.*, 9: 1376. DOI: 10.1038/s41467-018-03832-6
2. Kiba, T., Inaba, J., Kudo, T., Ueda, N., Konishi, M., Mitsuda, N., Takiguchi, Y., Kondou, Y., Yoshizumi, T., Ohme-Takagi, M., Matsui, M., Yano, K., Yanagisawa, S., Sakakibara, H. (2018) Repression of nitrogen-starvation responses by Arabidopsis GARP-type transcription factor AtNIGT1/HRS1 subfamily members. *Plant Cell*, in press. DOI: 10.1105/tpc.17.00810
3. Maekawa, S., Ishida, T. and Yanagisawa, S. (2018) Reduced expression of *APUM24*, encoding a novel rRNA processing factor, induces sugar-dependent nucleolar stress and altered sugar responses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 30: 209–227. DOI: 10.1105/tpc.17.00778.