

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. 研究成果の概要

本研究課題は、植物が持つフィールドの多様な栄養環境への適応能力や植物が示す異なる栄養環境における栄養応答の頑健性に遺伝的要因がどのように影響しているのかを解明し、どのような遺伝情報の改変が作物の栄養獲得と利用効率を向上させ、農業生産の維持・向上に有効であるかを明らかにすることを目標としている。このために、本研究課題では、植物の成長量や作物生産量に対して最も寄与率が大きい土壌中の栄養素である窒素栄養とリン栄養に焦点を当てる。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)を用いて窒素栄養あるいはリン栄養に対する応答の系統間差、品種間差を調べ、遺伝情報の違いによってもたらされる栄養応答ネットワーク構造の変化を解明し、多様な栄養環境への適応能力の向上に結びつく遺伝子あるいはそれら遺伝子の多型(自然突然変異による DNA 配列の相違)を発掘する。得られる情報は、「栄養利用効率の向上した品種や栄養の乏しい環境などに高い適応力を持つ植物の創出技術の開発」に不可欠であり、また、「植物種間あるいは品種間で異なる栄養利用効率を最大化する栽培方法の確立」にも寄与する。

栄養応答に関する系統間差と品種間差の解析によって、2017 年度までに、リン栄養獲得能力におけるシロイヌナズナ野生系統間差を生み出す遺伝的要素の1つとして赤色光受容体遺伝子(*phyB*)の多型があることを明らかにしている。そこで、本年度は、まず、*phyB* 遺伝子欠損株とそれの親株である野生系統(Col-0)の接木により作出した、地上部と地下部で異なる遺伝的背景を持つ植物体のリン栄養獲得能力を調べ、葉で受容された光シグナルが根における栄養吸収を制御していることを明らかにした。この発見によって、地上部の栄養応答ネットワークと地下部の栄養応答ネットワークが長距離シグナル伝達によって統合されていることを示した。さらに、イネにおいても*phyB* 遺伝子がリン栄養獲得制御に関わっていることを確認して、赤色光による長距離シグナル伝達を介したリン栄養獲得調節は多くの植物種で起こっていることを示唆し、作物の効率的な栽培方法を創案する基礎とした。

一方で、昨年度までに、*phyB* 遺伝子以外にも、窒素栄養あるいはリン栄養の獲得能力を指標としたゲノムワイド関連解析(GWAS)によって、栄養獲得能力の調節に寄与する可能性のあるシロイヌナズナの遺伝子を複数、見出している。そこで、本年度は、これらの遺伝子の破壊株を用意して表現型解析を行い、少なくとも、これらの中の 4 つの遺伝子は栄養獲得形質に寄与していることを明らかにした。これら GWAS によって見出された遺伝子の多型が栄養獲得能力の相違に結びついている可能性が高いため、これら遺伝子の機能解析を進めた。また、低窒素条件でも生育がよい野生系統やリン栄養吸収量大きい野生系統を用いた QTL マッピングによっても、栄養獲得能力の向上と結びついた遺伝子の多型を検索し、解析が進んでいるものでは鍵を握る遺伝子の多型の位置を 610 kb の領域にまで絞り込むことに成功した。加えて、優良形質をもたらす遺伝子変異を導入して優良品種を作出することの範例として、高 CO₂ 環境下で高効率に光合成を行うイネの開発を進めた。これは、ゲノム編集技術を用いて、気孔閉鎖制御の鍵因子である陰イオンチャネルタンパク質 SLAC1 の構造を改変し、それによって気孔の CO₂ 応答を改良し、高 CO₂ 環境下でも高効率に光合成を行うことができるイネを開発するものである。

異なる栄養環境への適応や栄養応答の頑健性に寄与する重要遺伝子の同定に加え、栄養応答ネットワークの系統間差、品種間差を包括的に明らかにすることも、栄養獲得能力の向上に結びつく栄養応答ネットワークの改変を行うためには重要である。そこで、2017 年度に特異な栄養応答を示すイネ栽培品種の根を用いた RNA-seq 解析によって取得したトランスクリプトームデータを用いて、WGCNA 法によりイネ品種間差を反映した栄養応答ネットワークのモジュール構造を明らかにした。この解析結果から、低窒素栄養条件によるリン栄養獲得の調節に寄与率が大きいと推定された転写因子に着目し、これら転写因子の栄養獲得制御への貢献の評価するため、これらの転写因子の遺伝子をゲノム編集によって破壊することを開始した。また、野外での窒素応答ネットワークを明らかにするため、窒素栄養応答性の異なるイネ8品種を異なる窒素栄養条件下で、水田とポットで栽培して精密な成長比較解析を行うとともに、葉から RNA を抽出して RNA-seq 解析を行った。また、植物種間差を評価するため、低窒素条件と通常条件で生育させた 20 系統のシロイヌナズナの葉と根から調製した RNA を用いて RNA-seq 解析を実施した。取得したトランスクリプトームデータを用いて、2019 年度に WGCNA 法により応答ネットワークのモジュール構造を明らかにする。

さらに、硝酸態の窒素栄養の獲得制御の分子メカニズムの解明を完了したことから、この分子メカニズムに基づいて、硝酸態窒素獲得関連遺伝子の発現量に関する数理モデルのプロトタイプを構築した。さらに、数理モデルを用いて植物転写因子遺伝子の人為的な改変の効果を予測することが可能であることを示すため、この数理モデルに合致した栄養獲得関連遺伝子の発現パターンの変化を発現制御因子の改変がもたらすかを精査する実験システムの構築を行った。

【代表的な原著論文】

1. Yasuhito Sakuraba, Satomi Kanno, Atsushi Mabuchi, Keina Monda, Koh Iba, and Shuichi Yanagisawa, “A phytochrome B-mediated regulatory mechanism of phosphorus acquisition”, *Nature Plants*, vol. 4, pp. 1089-1101, 2018.

2. Juntaro Negi, Shintaro Munemasa, Boseok Song, Ryosuke Tadakuma, Mayumi Fujita, Tamar Azoulay-Shemer, Cawas B. Engineer, Kensuke Kusumi, Ikuo Nishida, Julian I. Schroeder, and Koh Iba, “Eukaryotic lipid metabolic pathway is essential for functional chloroplasts and CO₂ and light responses in Arabidopsis guard cells”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, vol. 115, pp. 9038–9043, 2018.
3. Yoshie Maeda, Mineko Konishi, Takatoshi Kiba, Yasuhito Sakuraba, Naoya Sawaki, Tomohiro Kurai, Yoshiaki Ueda, Hitoshi Sakakibara and Shuichi Yanagisawa, “A NIGT1-centered transcriptional cascade regulates nitrate signalling and incorporates phosphorus starvation signals in Arabidopsis”, *Nature Communications*, vol. 9, 1376, 2018.

§ 2. 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
 - ・ 異なる栄養獲得能力を持つシロイヌナズナ野生系統とイネ品種を用いた RNA-seq 解析
 - ・ RNA-seq 解析データを用いたトランスクリプトームと表現型を関連づける WGCNA 解析
 - ・ GWAS により見出された栄養獲得に重要な遺伝子候補の機能解析
 - ・ 栄養獲得に関して優良なアレル(遺伝子多型)を持つと判断されたシロイヌナズナ野生系統の QTL マッピングによる栄養獲得形質に寄与する新規遺伝子の同定
 - ・ 栄養獲得関連遺伝子の発現の数理モデルの構築

(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
 - ・ 低窒素条件において高成長を示す野生系統の精密解析(C/N 応答性の解析、気孔応答性解析や、光エネルギーの利用効率測定、トランスクリプトーム解析など)
 - ・ 低窒素条件で高成長を示す野生系統の表現型を規定する主働遺伝子の QTL マッピング
 - ・ 気孔閉鎖制御因子 SLAC1 の改良による高 CO₂ 環境下でも高効率に光合成を行うことができるイネ系統の作製

(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
 - ・ 窒素栄養応答性が異なるイネ8品種の屋内(ガラス温室内)と屋外(水田)での精密生育比較解析(窒素含量、光合成速度、2種類のクロロフィル蛍光パラメーター(非光化学消光と光化学系 II の実効量子収率)、分けつ数、地上部乾物重などにおける窒素効果の評価)
 - ・ 窒素栄養応答性が異なるイネ8品種の栄養成長期の葉のトランスクリプトーム解析