

令和元年5月8日現在

機関番号：32658

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K18661

研究課題名(和文) 酸性土壌耐性の必須転写因子STOP1が制御する遺伝子群の種を超えた統合

研究課題名(英文) Integration of STOP1 mediated aluminium tolerance beyond species

研究代表者

小松 憲治 (Komatsu, Kenji)

東京農業大学・農学部・助教

研究者番号：90594268

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒメツリガネゴケSTOP1三重遺伝子破壊株を対象としたトランスクリプトーム解析から、17個のSTOP1制御下遺伝子を同定した。STOP1制御下遺伝子の過剰発現株を対象とした実験から、アルミニウム毒性に起因する細胞壁の硬化に対し緩和的に作用することが示唆される、2つのアルミニウム耐性関連遺伝子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルミニウム(Al)耐性に関わる分子機構における進化過程の一端を明らかにした。コケ植物のSTOP1は被子植物におけるAl耐性の中心的役割を担う有機酸放出には関与せず、主にAlの毒性による細胞壁硬化の緩和などに関わる遺伝子の制御に関与していることが明らかとなった。この緩和は複数の遺伝子による複合的作用によって為されていることが示唆され、単一で極めて高い耐性を付与する遺伝子は見つからなかった。被子植物のAl耐性をさらに高める実用的遺伝子の同定には至らなかったが、Alに対する耐性が細胞外での無毒化へ進化する上でのSTOP1遺伝子の進化が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Seventeen genes under the control of PpSTOP1s were identified from transcriptome analysis of the PpSTOP1 triple gene disruptants. From experiments with strains that overexpressor of the PpSTOP1 regulated gene, we identified two aluminum resistance related genes that are suggested to act palliatively on cell-wall-hardening due to aluminum toxicity.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：アルミニウム耐性 酸性土壌耐性 ヒメツリガネゴケ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

酸性土壌は、栄養塩類の溶脱や、酸性化に伴い溶出するアルミニウムイオンにより植物の生育が著しく阻害される問題土壌であり、東南アジア等の多雨地帯を中心に世界の耕地面積の 3~4 割を占める。途上国に多い酸性土壌の問題を解決するために、酸性土壌耐性の作物の作出が望まれる。被子植物は、根から根圏へ有機酸を放出することでアルミニウムイオンをキレートし、無毒化している。STOP1 転写因子は、有機酸トランスポーター、アルミニウムイオン排出トランスポーター遺伝子等の発現を包括的に誘導することで、植物に低 pH・アルミニウムの両方の耐性を付与する (Iuchi et al. PNAS 2008)。この STOP1 は、様々な植物種のゲノムにコードされ、低 pH・アルミニウム耐性に関与していることが明らかにされている (Iuchi et al. PNAS 2008, Yamaji et al. Plant Cell 2009)。さらに我々の研究から、コケ植物ヒメツリガネゴケにおいても STOP1 様の転写因子 (PpSTOP1) が存在し、それらがアルミニウム耐性に寄与していることが明らかとなった (Ohyama et al. Plant Physiol. 2013)。このことから、STOP1 転写因子は陸上植物に普遍的に保存された低 pH・アルミニウム耐性の必須因子として認識されている。我々が行った予備的な実験の結果から、ヒメツリガネゴケの PpSTOP1 は有機酸放出に関与する遺伝子群の発現制御に関与しないことが示唆された。一方で、コケ植物は低 pH およびアルミニウムイオンの毒性に対し、比較的高い耐性を示すことから、コケ植物には有機酸放出に加え、PpSTOP1 に制御される有機酸放出以外のアルミニウム耐性獲得機構が存在することが示唆された。

2. 研究の目的

本研究では PpSTOP1 破壊株に対するトランスクリプトーム解析から、PpSTOP1 の制御下にある遺伝子群を明らかにし、コケ植物が独自に獲得したアルミニウム耐性遺伝子を同定する。それを被子植物シロイヌナズナに導入することで、コケ植物が独自に獲得したアルミニウム耐性機構を、被子植物に統合したアルミニウム耐性植物の作出を試みることを目的とした。

3. 研究の方法

我々は先行研究において、コケ植物ヒメツリガネゴケのゲノムに 3 つの STOP1 オルソログがコードされることを明らかにした。先行研究では、そのうち PpSTOP1A と命名した遺伝子 1 つのみを破壊した遺伝子破壊株を対象とした実験から、PpSTOP1A のアルミニウム耐性への関与を明らかにした。本研究では、残り 2 つの PpSTOP1B, PpSTOP1C を破壊した PpSTOP1 三重破壊株 (STOP1 完全破壊株) を作出し、完全破壊株に対するトランスクリプトーム解析から PpSTOP1 の制御下にある遺伝子群を同定する。さらに、その遺伝子群の中からアルミニウム耐性に関与する可能性の高い遺伝子 (アルミニウム耐性候補遺伝子) を抽出し、その過剰発現株を用いて当該遺伝子のアルミニウム耐性への寄与を明らかにする。高い寄与の認められた遺伝子を被子植物のモデル植物であるシロイヌナズナで過剰発現させ、アルミニウム耐性の確認を行う。

4. 研究成果

(1) ヒメツリガネゴケ PpSTOP1 三重破壊株 (STOP1 完全破壊株) の作出とその評価

先行研究において作出された PpSTOP1A 遺伝子破壊株に対し、さらに PpSTOP1B, PpSTOP1C の破壊を試み、2 株の STOP1 完全破壊株を獲得した。PpSTOP1A, PpSTOP1B, PpSTOP1C の単独破壊株と完全破壊株をアルミニウム添加培地で生育させた実験の結果から、PpSTOP1B, PpSTOP1C はアルミニウム耐性に対する明確な関与は認められず、ヒメツリガネゴケにおける機能的な STOP1 は PpSTOP1A であることが明らかとなった。

(2) ヒメツリガネゴケ STOP1 完全破壊株に対するトランスクリプトーム解析

STOP1 完全破壊株を対象に、RNA-seq によるトランスクリプトーム解析を実施した。アルミニウム添加

培地上で培養した、野生型株および STOP1 完全破壊株のトランスクリプトームを比較し、STOP1 完全破壊株において発現に変動があった遺伝群を抽出した結果、17 個の有意に遺伝子発現が低下した遺伝子を同定した。これらをアルミニウム耐性候補遺伝子 (*Physcomitrella patens* ALuminium Tolerance Candidate 1 ~ 17; PpALTC1 ~ 17) とし、後の実験に供試した。

(3) アルミニウム耐性候補遺伝子過剰発現株の作出および機能解析

それら 17 個の遺伝子について過去の報告を元に、アルミニウム耐性への関与 (アルミニウム存在下における生育阻害の緩和能力など) に関する評価を行い、アルミニウム耐性への寄与が示唆される遺伝子から順に遺伝子過剰発現株を作出し、アルミニウム耐性の評価を行った。その結果、細胞壁硬化に対する緩和作用が示唆される PpALTC7, およびリン欠乏に対する緩和作用が示唆される PpALTC12 がアルミニウム耐性機能を有することが示唆された。一方で、その効果は被子植物の研究で明らかにされた有機酸トランスポーター遺伝子のように単一遺伝子で高い寄与を示すものではなく、単一では比較的弱い耐性の付与に留まった。コケ植物 STOP1 の制御下にある遺伝子は単一で高いアルミニウム耐性を付与する遺伝子は見つかっていない。これまでの研究から、コケ植物のアルミニウム耐性は、アルミニウムによる生育阻害に対し緩和的に作用する遺伝子の複合的效果によって成り立っていることが示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

<https://www.nodai.ac.jp/academics/agri/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

研究代表者氏名：小松 憲治

ローマ字氏名：KOMATSU, Kenji

所属研究機関名：東京農業大学

部局名：農学部

職名：助教

研究者番号（8桁）：90594268

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。