

令和 4 年 4 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14365

研究課題名(和文)植物根における栄養屈性に影響を与える環境及び遺伝要因の探索

研究課題名(英文) Investigation of environmental and genetic factors to regulate on nutritropism in plant roots

研究代表者

山崎 清志 (Yamazaki, Kiyoshi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任助教

研究者番号：20611297

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はイネの側根および主根で新たに発見した、栄養濃度勾配に対する正の屈性現象、栄養屈性を特徴づけることである。研究成果として、栄養屈性の屈性刺激が側根・主根ともにアンモニウムの濃度勾配であることを明らかにできた。変異体の遺伝解析の結果、ある植物ホルモンの輸送体が重要な役割を担うことを明らかにした。

主根の栄養屈性では、屈性刺激ではないにもかかわらずリン酸がアンモニウムに対する屈性応答を強くすることが判明した。またリン酸が存在すると、主根が栄養屈性を示すためにより強いアンモニウム屈性刺激を必要とすることも判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義として、栄養屈性はこれまで誰も実験的に示した例のない新規屈性である。最も研究が進んでいる屈性はすべて、植物が生存に必須な資源のうち、水と光、を効率よく獲得するために有用な機能であると理解されている。栄養屈性の存在は、植物が少なくともアンモニウムの濃度勾配を感知でき、よりその栄養濃度が高い方向へと根の伸長方向を変えて生育することで効率的に必須な資源である栄養を吸収しようとしていることを示した。

栄養屈性をコントロールできれば、農業において作物に効率的に肥料成分を吸収させることで施肥効率を向上させることが将来的に可能になるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：In order to characterize a novel tropism in rice lateral and main roots, which is named "nutritropism", major purposes are to investigate environmental and genetic factors to regulate nutritropism. As the results, it was found that ammonium gradient is the stimulus for nutritropism in lateral and main roots. Interestingly, only ammonium among the essential nutrients for plants, caused nutritropism. Mutant analysis revealed that a phytohormone transporter plays a critical role in nutritropism.

In the case of main roots, quantifications of nutritropic responses revealed that Pi enhances nutritropism toward ammonium although Pi did not stimulate nutritropism. In the presence of Pi, main roots required higher stimulation of ammonium to cause nutritropism.

研究分野：植物栄養

キーワード：屈性 栄養 植物根 濃度勾配 不均一環境 局所応答

### 1. 研究開始当初の背景

ほとんどの陸上植物が持っている屈性は、植物の資源獲得・生育に重要な役割を担っている。植物は『光とCO<sub>2</sub>と水と無機栄養』を生存に必須な資源とし、光屈性・重力屈性・水分屈性を用いて光と水が多い環境に向かって生長方向を変化させていることになる。これら屈性の研究には100年以上の歴史があり、最も発見が新しい水分屈性においても、反応に必要な mizu 遺伝子が東北大学の宮沢らにより同定されるなど、その分子メカニズムが詳細に調査されている。水分屈性と重力屈性の関係性を調査するために、東北大学の高橋らによって JAXA の協力のもと宇宙空間で試験が行われるほどこの分野の関心が高い。

既知の屈性反応およびその知見を例えば農業に応用するのは難しい。重力はそもそも屋外でのコントロールが困難で、水分や光は作物栽培期間に変動し続ける天候に大きく影響を受けるからである。

一方、申請者は最近イネの側根が栄養濃度勾配にさらされると高濃度方向に向かって根の伸長方向を変える新しい屈性現象、栄養屈性を発見した。

### 2. 研究の目的

栄養屈性に影響を与える内的要因(遺伝子発現)と外的要因(栄養環境)を明らかにすることで、これらを明らかにすることは、栄養屈性の農業への応用に向けた情報基盤を作ることである。屈性の理解を農業に応用する例や挑戦は、上述の問題からほとんど行われていない。しかしながら土壌中の栄養は基本的に肥料で人為的にコントロールされており、ほかの屈性刺激と比較して外環境に大きな影響を受けにくい。つまり栄養屈性の研究は、農学への応用につながると考えられる。

### 3. 研究の方法

#### (1) 栄養屈性関連遺伝子の同定

##### イネ EMS 変異を用いた方法

すでに変異体スクリーニングにより1系統の栄養屈性変異体を取得し、原品種とのF<sub>1</sub>植物もすでに栽培中である。2017年冬にF<sub>2</sub>種子を取得予定であり、このF<sub>2</sub>集団を用いて計画初年度にMutMAPを行い、候補領域を絞り込む。次年度にファインマッピングにより候補領域をさらに狭め、狭めた領域から原因候補遺伝子を選び、ゲノム編集によって野生型イネのその遺伝子を破壊し、栄養屈性の消失を確認することで、遺伝子の同定を行う。

##### 栄養屈性における品種間差を用いた方法

World rice core collection(WRC)の中から、栄養屈性が強い品種をすでに複数見出した。そのうち1品種について栄養屈性の弱い品種との交配後代F<sub>2</sub>種子を数百粒以上取得済みで、さらにF<sub>2</sub>植物約120個体程度についてその自殖後代F<sub>3</sub>を取得している。この材料を用いて初年度からと同様の方法で遺伝子同定を行う。

##### トランスクリプトーム解析の結果を用いた方法

本申請研究で、栄養屈性の強いイネ品種と弱い品種の、栄養屈性反応中の根を用いたトランスクリプトーム解析を計画している。

この解析結果、栄養屈性が強いイネ品種特異的に、発現が有意に高い、あるいは、低い遺伝子があればそれを候補遺伝子とする。その候補遺伝子の過剰発現、あるいはゲノム編集による遺伝子破壊によって栄養屈性への関与を示すことで遺伝子同定を行う。

#### (2) 栄養屈性に関わる遺伝子発現の網羅解析(栄養屈性の強い系統と弱い系統の比較)

WRCの中から栄養屈性の強いイネ品種(W)とほとんど反応しない品種(M)を材料にする。両品種はすでにWRCから選抜済みである(前述)。栄養屈性は栄養のグラジエント(n)に対して根が集まる反応なので、+n処理『栄養グラジエントに対して集まった根』と-n処理『集まらずに重力方向に伸びた根』からmRNAを抽出し、RNA-seqにより遺伝子発現の網羅解析(トランスクリプトーム解析)を行う。品種Wの+n(W+n)と-n(W-n)で有意に発現差がある遺伝子群をW<sub>n</sub>、品種Mで発現差がある遺伝子群をM<sub>n</sub>とする。つまり計4サンプル(2処理x2品種)のRNA-seqを行い、W<sub>n</sub>とM<sub>n</sub>を比較し、W<sub>n</sub>にのみ含まれる遺伝子群を抽出することで、栄養屈性に関連する遺伝子群をとらえる。この遺伝子群を解析することで、イネの根が栄養に近づくために、どんな遺伝子を発現しているのか?を明らかにする。

#### (3) 植物根における既知の栄養応答と栄養屈性との関連の調査

土壌中の栄養は土壌中で不均一に存在し、植物の根は栄養の種類や濃度に応じてさまざまに生長応答することがよく知られている。栄養屈性は栄養の濃度差に反応し、濃い方に向かって根を伸ばすことから、根は栄養の濃い方に近づきながら、変化する栄養濃度に応じて応答を変化させていることを示唆している。様々な栄養環境下で栄養屈性の度合を調べることで、栄養屈性と

生長応答の関連を、寒天培地中の根系イメージングと解析によって評価し、どのような栄養の種類と濃度にあるときに、栄養屈性が最も促進されるかを明らかにする。

#### 4. 研究成果

##### (1) 栄養屈性関連遺伝子の同定

すでに取得していた栄養屈性変異体を材料に計画通り、責任遺伝子のジーンマッピングを行うことで、候補遺伝子を1つに絞りこめた。ゲノム編集技術(CRISPR/Cas9システム)を用いてこの遺伝子の変異体を作り出し、変異体の種子を収穫したものの、研究期間内にはホモ変異体の取得まで達成し、表現型の確認まで完了することができなかった。

品種間差を用いた方法では、当初F3を用いてジーンマッピングにより栄養屈性関連遺伝子の道程を計画していたが、各系統内で表現型の再現性が低かったことから、さらに自殖を繰り返し、研究期間内にはF5-F6世代の分離集団を作成することができた。

遺伝子発現の網羅解析による栄養屈性関連遺伝子の同定は、後述にある通り、栄養源の組成が栄養屈性の反応性に大きく影響を与えることを発見したため、計画を大きく変更した。一方、栄養屈性の特徴づけにより(図1、2)、少なくとも申請者の実験環境においては、その屈性刺激は植物の必須栄養の中でアンモニウムの濃度勾配だけであることを突き止めた(Yamazaki et al., 2020)。そのため当初の計画にはなかったが、逆遺伝学的手法を用いて、イネゲノムに9つ以上あるアンモニウム輸送体遺伝子について、ゲノム編集技術(CRISPR/Cas9システム)を用いて変異体を作り出し、そのうちの一部では栄養屈性が消失することを発見した。

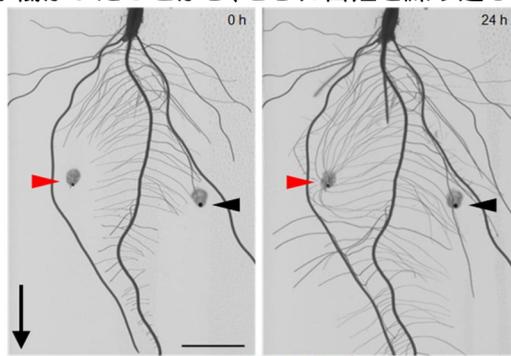


図1 イネ側根における栄養屈性の様子  
イネ幼苗の側根付近に栄養源を設置すると(左図)、24時間後には側根が栄養源に集まる様子が観察される(右図)。一方、対照区に側根が集まる様子は観察されない。MS: 10倍濃度のムラシダ・スクワグ混合塩類。縦矢印: 重力方向。横軸(スケールバー): 1.0 cm。

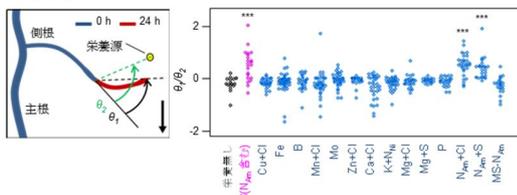


図2 イネ栄養屈性における屈性刺激となる無機栄養の同定  
側根がどれくらい栄養源に向かって伸長方向を変化させているかを測定することで(左図)、栄養屈性における屈性刺激の同定を試みた。縦矢印: 重力方向。様々な無機栄養を含む化合物を栄養源として試したところ(右図)、アンモニウム(N<sub>4</sub>)を含む化合物を用いたときのみ、栄養源に向かって側根が伸長方向を変化させる(右図)。MS: 10倍濃度のムラシダ・スクワグ混合塩類。N<sub>4</sub>: 硝酸。アスタリスク: 統計的に有意(p < 0.001)な変化。

##### (2) 栄養屈性に関わる遺伝子発現の網羅解析(栄養屈性の強い系統と弱い系統の比較)

(3)の成果から予想外の発見があったため、計画を大きく変更した。異なる2系統の解析ではなく、栄養屈性の強い系統に対して、異なる栄養源に対する応答性の違いに伴う遺伝子発現の変化を網羅解析により明らかにすることで、栄養屈性に関連する遺伝子の絞りこみを試みた。現在、栄養源に屈性刺激であるアンモニウムと制御因子として働くことが判明したリン酸の有無を処理条件に、経時的な根端のトランスクリプトームを取得した。この解析は先進ゲノム支援プロジェクト(JSPS KAKENHI Grant Number 16H06279)の支援を受け行われた。

##### (3) 植物根における既知の栄養応答と栄養屈性との関連の調査

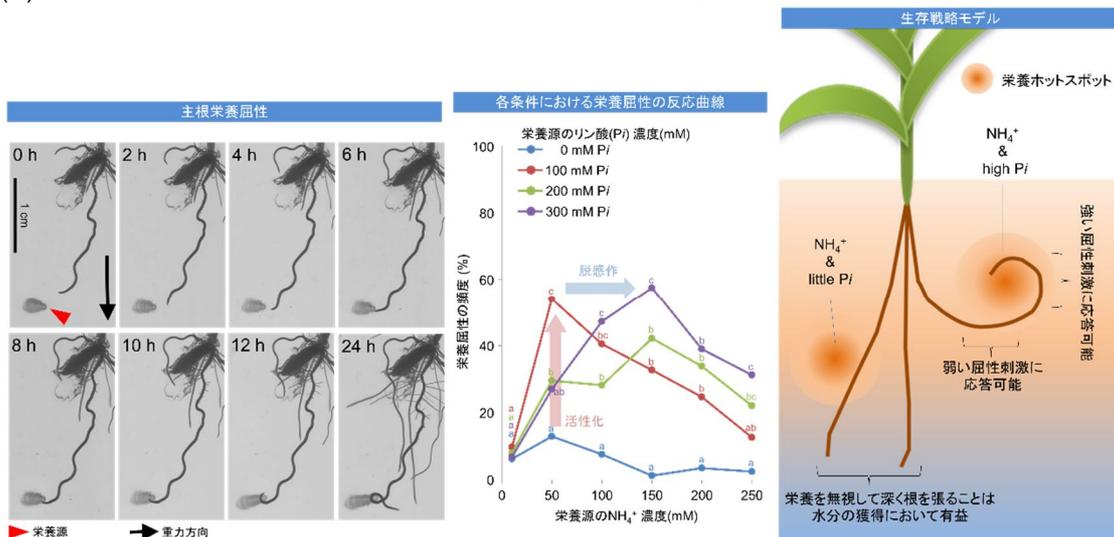


図3 主根栄養屈性の反応特性とそこから予想される生存戦略モデル

これまで植物根が局所的な窒素やリンなどの栄養に対して局所的に応答できることが知られている。そこで、主根栄養屈性を用いて、様々な栄養の組み合わせの栄養源を用いて栄養濃度勾配を作成し、イネ主根の栄養屈性の応答性を評価したところ、意外なことにリン酸とアンモニウム

が共存したとき急激に応答性が向上し、逆にアンモニウム単体だと反応がわずかにしか生じないことが判明した(Yamazaki et al., 2022)。栄養屈性はリン酸単体だとまったく生じないことから、主根栄養屈性もアンモニウムが屈性刺激であることが明らかである。さらに様々な濃度のアンモニウムとリン酸を組み合わせた栄養源を用いて屈性応答を詳細に調査したところ、リン酸濃度をある程度高くすると、栄養屈性に必要なアンモニウム濃度が高くなることを突き止めた(Yamazaki et al., 2022)。このリン酸によるアンモニウムへの屈性制御機構は、図3に示すように非常に合理的に理解することができ、本研究により、とても興味深い栄養屈性の特徴づけを行うことができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kiyoshi Yamazaki, Yoshihiro Ohmori, Toru Fujiwara.	4. 巻 61
2. 論文標題 A positive tropism of rice roots toward a nutrient source	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 546, 553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcz218	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kiyoshi Yamazaki, Toru Fujiwara	4. 巻 11
2. 論文標題 The Effect of Phosphate on the Activity and Sensitivity of Nutritropism toward Ammonium in Rice Roots	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 733
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants11060733	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山崎清志
2. 発表標題 イネの栄養屈性の反応特性について
3. 学会等名 ～植物構造オプト～ 若手の会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kiyoshi Yamazaki, Yoshihiro Ohmori, Toru Fujiwara
2. 発表標題 A Positive Tropism of Rice Roots toward a Nutrient Source
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会 PCP session
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kiyoshi Yamazaki, Toru Fujiwara
2. 発表標題 The strategy of plant survival revealed by nutritropism in rice roots
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎清志・大森良弘・藤原徹
2. 発表標題 栄養濃度勾配に応答する植物根の新規屈性である 栄養屈性の特性
3. 学会等名 土壌肥料学会2019年度静岡大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 名倉涼平・山崎清志・藤原徹
2. 発表標題 栄養屈性変異体のスクリーニングと温度に対する栄養屈性の変化
3. 学会等名 土壌肥料学会2019年度静岡大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎清志, 大森良弘, 高橋宏和, 中園幹夫, 藤原徹
2. 発表標題 イネの根における栄養屈性
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大森良弘、山崎清志、藤原徹
2. 発表標題 イネの根が示す栄養屈性の特徴とその役割
3. 学会等名 人日本育種学会第137回講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

植物の栄養屈性の発見 &#12316;土の中の栄養のありかを探り当てる植物の新機能&#12316;;  
[https://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/topics\\_20191213-2.html](https://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/topics_20191213-2.html)

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------