

平成22年5月7日現在

研究種目：基盤研究 A

研究期間：2007～2010

課題番号：19208002

研究課題名（和文） イネのアミロプラストエンジニアリングに関する基礎的研究

研究課題名（英文） Toward the amyloplast engineering in rice.

研究代表者

佐藤 光 (SATO HIKARU)

九州大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：70128031

研究代表者の専門分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：イネ、アミロプラスト、突然変異、OMICS、澱粉、澱粉生合成酵素、サチュレーションミュータジェネシス、バイオインフォマティクス

## 1. 研究計画の概要

本研究は、澱粉生合成・集積の場であるアミロプラストの OMICS エンジニアリングによるシステムティックな澱粉の改変と効率的集積を目的として、アミロプラスト機能に関わる遺伝子の網羅的基礎データを得ることである。

本研究では、イネの最も主要な利用成分である胚乳澱粉の細胞内生合成・集積系について、①アミロプラスト関連遺伝子のサチュレーションミュータジェネシス、②アミロプラスト機能に関わる遺伝子の検索とプロファイリング並びに変異遺伝子の単離・同定、③関連タンパク質の発現プロファイルと変異タンパク質の同定・単離、④変異体澱粉の理化特性解析、⑤形質転換体を用いた遺伝子機能の解明と新規澱粉系統の作製を行う。これら一連の研究を統合し、遺伝子の発現及び機能に関する情報を解析するバイオインフォマティクスを用いて形質発現のための遺伝子制御システムに関する情報を整理化し、積極的に形質をデザインするシステムティックな遺伝子資源の開発と新奇コメ澱粉の論理的育種法の確立を目指す。

## 2. 研究の進捗状況

(1) TILLING分析の結果、本MNU処理では動物細胞や微生物同様90%以上がGC→AT型への塩基置換変異で、遺伝子座当たりの変異率は1kbp当たり6～9で安定していた (Suzuki et al. 2008)。この結果から、3,000系統程度の変異ライブラリーを確立できれば、イネゲノム中のほぼ全ての遺伝子に関する変異を網羅

できる可能性が示された。また、ナンセンス変異に加え、多様なミスセンス変異が得られることで、遺伝子座内の機能部位の特定と評価が可能であることが示された (WSU CSSセミナー、2010)。

(2) マイクロアレイ及びプロテオーム解析により、登熟時期及び細胞内器官によって澱粉生合成関連酵素遺伝子及び酵素同位体の発現が異なること (育種学会 2009)、f1o2変異はその調節遺伝子の一つであることが示された (Plant Cell, 投稿済み)。また、変異ライブラリーについて登熟種子各画分のプロテオーム分析を行い、68kDSSIを含む多様な変異を選抜できた。

(3) SS3変異の胚乳澱粉はアミロース (AM) 含有率が有意に増加し、アミロペクチン (AP) は DP36以下の長鎖と DP9以下の短鎖が顕著に減少し、難糊化性を示した (Fujita et al. 2007)。PHO1変異を単離し、澱粉生合成の初発反応に PHO1を含め2種以上の酵素が関与すること、PHO1は低温での初発反応に重要な役割を果たすことを明らかにした (Sato et al. 2008)。さらに、PUL変異を単離し、本酵素がISA1の補助的役割を果たし、澱粉の結晶構造形成に関与することを示した (Fujita et al. 2009)。(4) AGPase を高発現する組換え体植物を用いた解析から、澱粉合成の制約は ADP-Glc 合成の下流の調節系にあり、本酵素の高発現は炭素などの上流の基質濃度の上昇を招くことを示した (Nagai et al. 2009)。

3. 現在までの達成度

③おおむね順調に進展している。

理由：イネの全ゲノム遺伝子を網羅する変異ライブラリーの作製、マイクロアレイ及びプロテオームなど OMKICS 手法を用いた新たな変異特性解析法の開発、遺伝子組換え法と変異体を組合わせた新たなリソース開発など、当初の目標を概ね達成してきた。これらの研究成果は、筆頭著者を含む国際誌への投稿論文 10 件、国際学会 2 件及び国内外の研究機関での招待講演 8 件を含む学会発表 32 件、特許出願 4 件など、順調に公表してきた。

4. 今後研究の推進方策

今年度が本研究の最終年度であるので、これまでの研究を継続して発展を図るとともに、研究の総括・取り纏めを行う。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Suzuk T.他 7 名中 4 番目 MNU-induced mutant pools and high performance TILLING enable finding of any gene mutation in rice. *Mol Genet Genomics* 279: 213-223(2008) 査読有
- ② Satoh H. 他 14 名中 1 番目 Mutation of the plastidial  $\alpha$ -glucan phosphorylase gene in rice affects the synthesis and structure of starch in the endosperm. *The Plant Cell*, 20: 1833-1849 (2008) 査読有
- ③ Fujita N. 他 14 名中 14 番目 Characterization of pullulanase (PUL)-deficient mutants of rice (*Oryza sativa* L.) and the function on starch biosynthesis in the developing rice endosperm. *Journal of Experimental Botany*, 60: 1009-1023 (2009) 査読有

[学会発表] (計 32 件)

- ① H. Satoh Revealing the functions of genes involved in starch biosynthesis in non-photosynthetic organ by using rice mutant lines Starch Round Table 2007、4-6 Oct. 2007、San Antonio, Texas, USA
- ② H. Satoh Saturation mutagenesis by MNU treatment in rice. CSS Seminar, Washington State Univ. USA (21 Oct. 2009)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 4 件)

名称：難消化性の米穀および難消化性デンプン  
発明者：北村進一他 5 名

権利者：同上

種類：

番号：特願 2008-106146

出願年月日：2008/04/15

国内外の別：国内

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

西日本新聞 (2009 年 1 月 25 日 米粉を小麦粉の代替に)、日本経済新聞(2009 年 7 月 30 日 機能性食品に本格参入)、日経MJ (2009 年 8 月 21 日 大学と「超硬質米」活用、週刊農林 (2010 年 1 月 5 日第 2072 号イネの機能性澱粉素材の開発と米粉利用 1)、((2010 年 2 月 5 日第 2075 号 その 2)、((2010 年 3 月 25 日第 2080 号 その 3)