

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 6 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2011

課題番号：20580014

研究課題名 (和文) イネ科植物由来の高 kcat Rubisco を利用したイネの光合成能力の改良

研究課題名 (英文) Improvement of photosynthetic efficiency by introduction of high kcat Rubisco from Poaceae.

研究代表者

深山 浩 (HIROSHI FUKAYAMA)

神戸大学大学院・農学研究科・助教

研究者番号：60373255

研究分野：農学

科研費の分科・細目：作物学・雑草学

キーワード：光合成, Rubisco, 酵素特性, 相同組換え, イネ

1. 研究計画の概要

イネの光合成能力の改良のために、高 kcat Rubisco を持つことが予想される C4 植物、寒冷地に適応した植物 (牧草類、高山植物等) から kcat が高く、かつ CO₂ に対する K_m がイネの Rubisco と比較的近い酵素をスクリーニングする。次に、その条件を満たす Rubisco を持つ植物より、核ゲノムにコードされている小サブユニット遺伝子 (高 kcatRbcS)、葉緑体ゲノムにコードされている大サブユニット遺伝子 (高 kcatRbcL) の全長 cDNA をクローニングする。その後、アグロバクテリウム法により高 kcat RbcS をイネに導入する。そして、得られた形質転換体について、RNAi 法によりイネが持つ RbcS をノックダウンする。また、高 kcat RbcL についてはパーティクルガンを利用した相同組換え法によりイネの葉緑体ゲノムに導入する。高 kcat RbcL 形質転換体を母本として高 kcat RbcS 形質転換体と交配し、両方を発現する形質転換イネを得る。以上により、高 kcat Rubisco を発現する形質転換イネを作出し、光合成特性や収量への影響を解析する。

2. 研究の進捗状況

(1) 高 kcatRubisco のスクリーニング

イネ科に属する C4 植物、寒冷地牧草類、高山植物について高 kcat Rubisco を探索し、ソルガム、チモシー、ウシノケグサがイネの光合成能力の改良に有効な Rubisco を持つことが分かった。

(2) 高 kcatRubisco のクローニングと形質転換イネの作出

ソルガムの RbcL と RbcS の全長 cDNA をクローニングした。RbcS についてはアグロバク

テリウム法によりイネに導入し、形質転換イネを作出した。RbcL に関してはパーティクルガンを用いた相同組換え法によりイネ葉緑体ゲノムに導入を試みている。

(3) 形質転換イネの生理解析

作出できたソルガム RbcS を高発現する形質転換イネについて Rubisco の酵素特性を解析した。形質転換イネの Rubisco の kcat はイネの約 1.5 倍に高まることが明らかとなった。形質転換イネでは Rubisco 量が増加し、Rubisco の活性化率が低下することが明らかとなった。また、光合成速度は形質転換イネと非形質転換イネで有意な差は認められなかった。J_{max}/V_{cmax} が形質転換イネで低下することから Rubisco のカルボキシレーション能力は増加したが、電子伝達活性が律速する為に光合成能力が増加しないと考えられた。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

本研究の目的はイネの Rubisco の kcat を高めて光合成能力を改良することにある。本研究により、高 kcat Rubisco の RbcS のみを高発現させるだけで Rubisco 活性が 1.5 倍高まることを明らかとしており、最も大きな目的をクリアしている。本研究のように実用化レベルで Rubisco の酵素特性を改良できたのは世界で始めてである。

4. 今後の研究の推進方策

ソルガム RbcS を高発現する形質転換イネでの Rubisco 量を 50%程度に減少させる (RNAi 法) ことを試みる予定である。そうすれば、窒素利用効率が改善され、光合成能力が改良できるものと予想している。

また、計画当初には予定にしていなかったがイネ RbcS とソルガム RbcS のキメラ遺伝子を作成して新たにイネに導入し、ソルガム RbcS のどの領域がイネ Rubisco の活性を高めるのに重要であるのかを明らかとする予定である。

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 9 件)

(1) Fukayama H., Sugino M., Fukuda T., Masumoto C., Taniguchi Y., Okada M., Sameshima R., Hatanaka T., Misoo S., Hasegawa T. and Miyao M. Gene expression profiling of rice grown in free air CO₂ enrichment (FACE) and elevated soil temperature. *Field Crops Res.*, 査読有 121: 195-199. 2011.

(2) Fukayama H., Abe R. and Uchida N. SDS-dependent proteases induced by ABA and its relation to Rubisco and Rubisco activase contents in rice leaves. *Plant Physiol. Biochem.*, 査読有 48: 808-812. 2010.

(3) Masumoto C., Miyazawa S., Ohkawa H., Fukuda T., Taniguchi Y., Murayama S., Kusano M., Saito K., Fukayama H. and Miyao M. Phosphoenolpyruvate carboxylase intrinsically located in the chloroplast of rice plays a crucial role in ammonium assimilation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 査読有 107:5226-5231. 2010.

(4) Fukayama H., Fukuda T., Masumoto M., Taniguchi Y., Sakai H., Cheng W., Hasegawa T. and Miyao M. Rice plant response to long term CO₂ enrichment: Gene expression profiling, *Plant Sci.*, 査読有 177:203-210. 2009.

(5) Ishikawa, C., Hatanaka, T., Misoo, S. and Fukayama, H. Screening of High kcat Rubisco among Poaceae for Improvement of Photosynthetic CO₂ Assimilation in Rice, *Plant Prod. Sci.*, 査読有 12:345-350. 2009.

[学会発表] (計 14 件)

(1) Ishikawa C., Hatanaka T., Misoo S. and Fukayama H. Chimeric Incorporation of Sorghum RbcS Increases the Catalytic Turnover Rate of Rubisco in Transgenic Rice Plants. 国際光合成会議, 2010 年 8 月 23 日-27 日, 北京

(2) 石川智恵, 畠中知子, 三十尾修司, 深山浩 ソルガム RbcS の高発現は形質転換イネにおける Rubisco の反応回転速度を増加させる, 日本植物生理学会, 2010 年 3 月 19 日, 熊本大学

(3) 深山浩, 西川薫, 畠中知子, 三十尾修司 オオムギ Rubisco activase の高発現がイネの光合成特性と葉内成分含量におよぼす効果, 日本作物学会, 2009 年 3 月 28 日, つくば国際会議場

(4) 深山浩, 石川智恵, 畠中知子, 三十尾修司 イネの光合成能力改良に向けたイネ科植物内における高 Kcat Rubisco の探索. 日本作物学会, 2008 年 9 月 25 日, 神戸大学農学部

[図書] (計 0 件)

[その他]