

平成22年 6月 11日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20780013
 研究課題名（和文） イネ糊粉層とデンプン性胚乳における貯蔵物質蓄積の分子機構解明に関する研究
 研究課題名（英文） Profiling of genes related to storage products in rice aleurone cells and starchy endosperm.
 研究代表者
 石丸 努（ISHIMARU TSUTOMU）
 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究所稲収量性研究チーム・任期付研究員 研究者番号：40414635

研究成果の概要（和文）：イネ糊粉層とデンプン性胚乳における炭素代謝に関する遺伝子発現を調査したところ、糊粉層では解糖系の遺伝子のほか、クエン酸回路の遺伝子が多くみられたのに対し、デンプン性胚乳ではデンプン蓄積にかかわる酵素の遺伝子発現が多くみられた。

研究成果の概要（英文）：Transcripts of genes related to carbohydrate metabolism were investigated in developing rice aleurone cells and starchy endosperm. The genes related to glycolysis and TCA cycle were preferentially expressed in aleurone cells, whereas those related to starch-biosynthesis were expressed in starchy endosperm.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：作物学

科研費の分科・細目：作物学・雑草学

キーワード：イネ、胚乳、糊粉層、デンプン性胚乳、レーザーマイクロダイセクション

1. 研究開始当初の背景

近年、コメの需要は特に人口増加が著しい発展途上国で高まっている一方、地球規模の温暖化に端を発する気象変動により、今後主要作物の収量が低下するリスクが高まると予測されている。国内ではグルメ志向や健康志向により、コメの食味や機能性に関心が寄せられている。ごく最近では穀物のバイオ燃料への工業用途により、穀物を主原料とした食品の価格が高騰している実情もある。これ

らの農業的動向を考えると、食用および工業用への安定供給のために、穀物の収量や品質を向上させる作物育種の必要性は今後増すであろうと考えられる。

2. 研究の目的

イネ・ムギ・トウモロコシなどは、胚乳に多量のデンプン、貯蔵タンパク、脂質を蓄積する。胚乳は登熟の過程で、胚乳の周縁部に脂質や貯蔵タンパク質（アルブミン、グロブリン）を蓄積する糊粉層と、糊粉層の内側に

デンプンや貯蔵タンパク（グルテリン、プロラミン）を蓄積するデンプン性胚乳に分化する。また糊粉層はデンプン性胚乳と極めて異なる形態を有し、貯蔵物質を合成するための同化産物を胚乳に取り込むのに重要な役割を果たすことが示唆されている。すなわちこの2つの組織は機能的にも栄養的にも異なる性質を持つため、糊粉層とデンプン性胚乳における貯蔵物質蓄積の分子機構の違いを解明することは、今後の収量や品質向上、あるいは新たな機能性を持った穀物の創出を目指す上で、重要な基礎的知見を提供することに繋がる。

そこで申請者は、微小な植物組織を精度良く単離する LMD 装置を利用し、イネ登熟粒の糊粉層とデンプン性胚乳を別々に単離し、遺伝子発現解析を行うことのできる実験系を確立した。本研究課題では、胚乳微小組織を単離できる LMD 装置と胚乳に蓄積するデンプンや脂質に関わる遺伝子発現の動態を把握することのできる遺伝子発現解析を通じて、胚乳の貯蔵物質蓄積に関する遺伝子群のプロファイリングを行う。

3. 研究の方法

糊粉層とデンプン性胚乳は連続的な組織であり、通常ピンセットなどで分離することは不可能である。そのため、微小組織を単離することの出来る LMD 技術を用いて、開花後7日と12日における胚乳の糊粉層(A)とデンプン性胚乳中心部(E2)を単離して微量のRNAを抽出した。抽出した total RNA を Agilent 2100 Bioanalyzer にかき、RNA の品質チェックを行った後、10ng の total RNA を Ovation system により増幅し、発現解析を行った。

4. 研究成果

(1) Leica社のAS LMDにより、開花後7日と12日の登熟粒から、背側の糊粉層(A)とデンプン性胚乳中心部(E2)を図1のように正確に単離した。

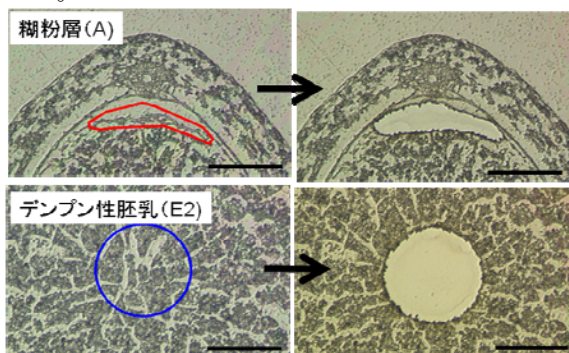


図1. 開花後7日における背側糊粉層(A)とデンプン性胚乳中心部(E2)のレーザーマイクロダイセクションによる単離図. 開花後12日も同様に単離した。Bar= 250um.

(2) デンプン性胚乳では多量のデンプンが蓄積するが、糊粉層ではほとんど蓄積しない。そこでデンプン合成系酵素のうち、グルコース6リン酸トランスロケター、ADPグルコースピロホスホリラーゼ、ADPグルコーストランスポーター、デンプン枝付酵素、デンプン枝きり酵素に関して両組織における遺伝子発現を調査した。これらの遺伝子群はデンプンの蓄積様式と同じく、デンプン性胚乳で著しく発現が強く、糊粉層では発現が低かった(図2)。

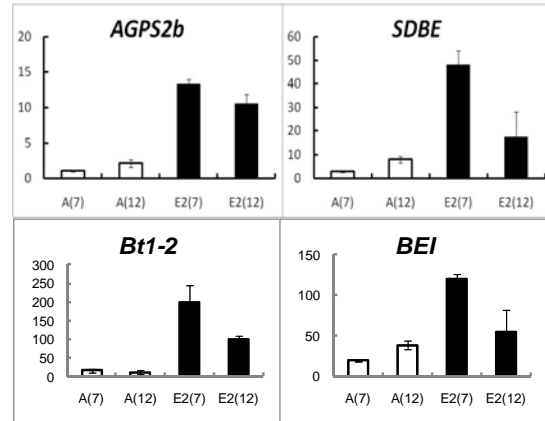
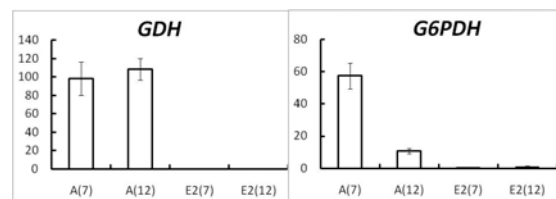


図2. ADP-グルコースピロホスホリラーゼ (AGPS2b) とデンプン枝きり酵素 (SDBE)、ADP-グルコーストランスポーター (Bt1-2)、デンプン枝付酵素 (BEI) の糊粉層 (A) とデンプン性胚乳中心部 (E2) における遺伝子発現量. 括弧内は開花後7日および12日を表す. 縦軸は Histone H3 との相対的な発現量.

(2) 次に糊粉層でデンプンが蓄積しないのは、単にデンプン合成系酵素の遺伝子発現が低いからだけなのか、デンプンまでの代謝段階で代謝の流れが変化していないのか、を検討するために、グルコースジヒドロゲナーゼ、UDP-グルコースジヒドロゲナーゼ、グルコース6リン酸ジヒドロゲナーゼなどのデンプン合成までの中間代謝産物を脱水分解する酵素の遺伝子発現に関して調査した。糊粉層ではこれらの遺伝子発現がデンプン性胚乳に比べて著しく強く、糊粉層でデンプンが蓄積しないのは、単にデンプン合成系酵素が弱いからではなく、そこに至るまでの代謝段階で中間産物が脱水分解を受けていることが示唆された(図3)。



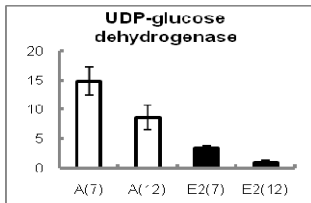


図3. グルコースジヒドロゲナーゼ (GDH)、グルコース6リン酸ジヒドロゲナーゼ (G6PDH) とUDP-グルコースジヒドロゲナーゼの遺伝子発現量. 表示は図2と同様.

(3) 糊粉層では脂質が蓄積する。以上の研究で、デンプン合成に関する糊粉層とデンプン性胚乳の代謝の違いが示唆されたが、糊粉層の脂質合成にかかわる遺伝子群を明らかにするために、解糖系にかかわる遺伝子群（ピルビン酸脱水素酵素、Acetyl-CoA カルボキシラーゼ）やTCA回路に関わる遺伝子群（Aconitase、Malate dehydrogenase）の遺伝子発現を調査した。これらの遺伝子発現は糊粉層で特異的に強かった（図4）。

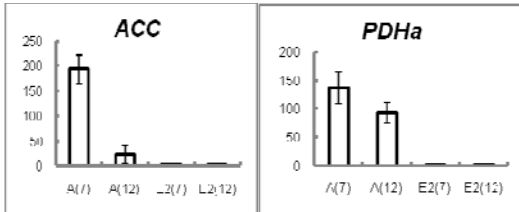


図4. Acetyl-CoA カルボキシラーゼ (ACC) とピルビン酸脱水素酵素 (PDHa) の遺伝子発現量. 表示は図1と同様.

(4) 糊粉層でTCA回路に関わる遺伝子群が多くみられたことから、透過型電子顕微鏡によるミトコンドリアの観察、および酸素電極による溶存酸素濃度の測定を行った。糊粉層では細胞内にミトコンドリアが密集して存在し、3-6%の溶存酸素が確認された。これに対し、デンプン性胚乳では溶存酸素濃度は0%で、糊粉層において、少なくとも好気呼吸によりエネルギーを獲得していることが示唆された（図5）。

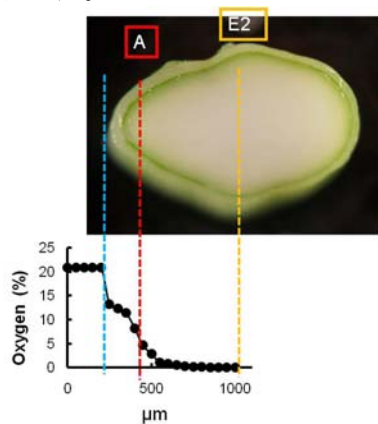


図5. 開花後7日の登熟粒における溶存酸素濃度.

(5) 以上の結果により、炭素代謝の観点からイネ糊粉層とデンプン性胚乳の物質蓄積機構の違いが明らかとなり、それらに関わる遺伝子群が整理された。

5. 主な発表論文等

(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:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

()

研究者番号:

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：