

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K14735

研究課題名（和文）落葉木本植物の春の成長時における冬期貯蔵リンの重要性の解明

研究課題名（英文）Importance of winter-stored phosphorus during spring growth of deciduous woody plants.

研究代表者

栗田 悠子 (Kurita, Yuko)

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・助教

研究者番号：00796518

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）：落葉木本植物では落葉前に葉から栄養素を回収し、冬期の貯蔵を経て春に再転流することで、貴重な栄養素を効率的に利用していることが知られている。本研究ではモデル樹木であるポプラを用いて、春の開芽時における冬期貯蔵リンの分解とリンの再転流の重要性の評価を行うために、リンの冬季貯蔵分子であるイノシトール6リン酸（IP6）の分解酵素の同定を試みた。また実験室内短縮周年系における休眠-開芽時の幹の時系列トランスクリプトームを行い、長日と暖温条件を感受したのちの遺伝子発現変動プロファイルを取得した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

個体内における季節的な栄養素のリサイクル（転流）は樹木が効率的に栄養素を利用する戦略の一つとして古くから知られている。しかし冬期に枝や幹に貯蔵されたリンがどのように春の開芽時に寄与しているのかは明らかではない。本研究の成果と今後の研究により、樹木が四季の繰り返しを通じて、どのように栄養資源の個体内プールを構築し利用していくかを明らかにすることが期待される。

研究成果の概要（英文）：It is known that deciduous woody plants efficiently utilize valuable nutrients by collecting nutrients from leaves before leaf fall, storing them during winter, and then re-translocating them in spring. In this study, using poplar as a model tree, we attempted to identify the degrading enzyme of phosphorus storage compounds in winter. We also conducted a time-series transcriptome of stems during dormancy and bud opening in a shortened annual cycle system in a laboratory and obtained gene expression profiles after exposure to long day and warm temperature conditions.

研究分野：植物生理学

キーワード：樹木 リン 転流

1. 研究開始当初の背景

長い年月を生き、巨大な個体を構築する樹木において、個体内の栄養素をいかに維持・増大させていくかは重要な成長戦略である。落葉木本植物では落葉前に葉に含まれる様々な栄養素 (C, N, P, etc.) を回収し (Chapin & Kedrowski, 1983; Keskitalo et al., 2005)、回収された栄養素はデンプンや貯蔵タンパク質などとして多年性組織に貯蔵する。これらの冬期の貯蔵栄養素は春に再転流され枝葉の成長に利用され、窒素では新しい枝葉に含まれる約 90% が貯蔵窒素由来であることが報告されている (El Zein et al., 2011)。

多量必須栄養素であるリンについては、落葉木本植物ポプラにおいて冬期にイノシトール 6 リン酸 (IP₆) として枝などに蓄えられることが申請者の研究により明らかになった (Kurita et al., 2017)。冬期の枝の IP₆ 濃度は春になると急激に減少すること、また ³²P を用いたオートラジオグラフィーの結果から、冬期に貯蔵されたリンは、IP₆ から分解・転流され、無機リン酸やその他の有機リン酸化合物として、他の栄養素と同様に春の成長に寄与していることが示唆されていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は冬期に貯蔵されたリンの翌年の成長における重要性を明らかにすることである。上記のように落葉木本植物において、季節的なリンの貯蔵と転流が行われていることは知られていたが、それらが樹木の成長にどの程度寄与しているのかは明らかではない。開芽時に貯蔵リンを利用できない形質転換体が作成できれば、開芽時における貯蔵リンの重要性や、土壤中のリン条件に応じた利用率の調節機構が存在するかなどの疑問を検証することが可能になる。

本研究では、貯蔵リンを利用できない樹木の作出に向けて、冬期のリン貯蔵分子である IP₆ に着目した。春の開芽時にリンを再転流するためには、IP₆ から無機リン酸へと分解する必要があるため、IP₆ の分解酵素を同定することができれば、その遺伝子が機能しない形質転換体すなわち、IP₆ を分解できず転流を行えない樹木を作出できると考えた。

3. 研究の方法

IP₆ は種子植物の種子におけるリン貯蔵分子としても知られており、モデル草本植物のシロイヌナズナでは発芽時の IP₆ の分解に関わる IP₆ 分解酵素 (PAP15) が同定されている。開芽時に高発現する IP₆ 分解酵素のホモログを探索するために、短縮周年系で培養したモデル樹木のポプラを用いて RNA-Seq を行った。短縮周年系とは実験室内でポプラの四季を模倣する系であり、短日と低温によって落葉・休眠させたポプラに再び長日と暖温条件を経験させることで開芽を誘導する。RNA-seq により開芽時に発現が上昇することがわかった候補遺伝子について、ベンサミアナタバコを用いた一過的発現系により発現させ、タンパク質の IP₆ 分解酵素活性を調査した。

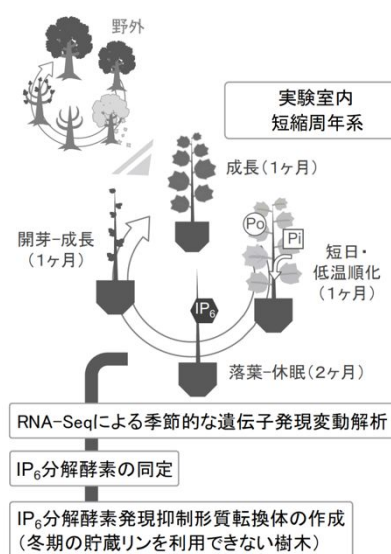


図. 1 研究の概要

4 . 研究成果

実験材料であるポプラについて、これまで申請者らが季節的なリン転流の研究に用いてきた培養が容易な *Populus alba* と、形質転換が比較的容易な *Populus tremula* x *P. tremuloides* clone T89 について、短縮周年系を用いた時系列 RNA-Seq 解析を行い、IP₆ 分解候補遺伝子が含まれる PAP ファミリーのホモログと、リン酸輸送体などのリン輸送・代謝関連遺伝子の季節的な発現プロファイルを明らかにした。*Populus alba* の幹の発現変動遺伝子の結果については、放射性同位体を用いたリン転流経路の追跡実験の結果と合わせ論文を執筆・投稿し、2022 年度に Plant, Cell & Environment にて公開された(Kurita et al., 2022)。

一方で RNA-Seq 解析により得られた IP₆ 分解酵素遺伝子の候補について、クローニングを行いタンパク質の IP₆ 分解酵素活性測定をすすめたが、EGFP が安定して合成される条件でも PAP ホモログタンパク質の合成が確認されないなどの結果が得られており、現段階では再現性のある酵素活性の結果が得られていない。今後は精製に用いるタグの検討や、タンパク質の発現系の検討を通して、安定した結果を得られる系の確立が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Kurita Yuko, Kanno Satomi, Sugita Ryohei, Hirose Atsushi, Ohnishi Miwa, Tezuka Ayumi, Deguchi Ayumi, Ishizaki Kimitsune, Fukaki Hidehiro, Baba Kei'ichi, Nagano Atsushi J., Tanoi Keitaro, Nakanishi Tomoko M., Mimura Tetsuro	4. 巻 -
2. 論文標題 Visualization of phosphorus re translocation and phosphate transporter expression profiles in a shortened annual cycle system of poplar	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant, Cell & Environment	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pce.14319	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5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 栗田悠子
2. 発表標題 落葉木本植物ポプラの季節的なリン転流機構の解明
3. 学会等名 近畿植物学会 第 10 回講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 栗田 悠子, 馬場 啓一, 手塚 あゆみ, 出口 亜由美, 大西 美輪, 石崎 公庸, 深城 英弘, 三村 徹郎, 永野 惇
2. 発表標題 ポプラ短縮周年系を用いた季節的なリン転流機構の解明と野外RNA-Seqとの比較
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 栗田悠子, 手塚あゆみ, 出口亜由美, 大西美輪, 石崎公庸, 深城英弘, 馬場啓一, 三村徹郎, 永野 惇
2. 発表標題 ポプラ短縮周年系における季節現象再現性の評価
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 栗田 悠子, 菅野 里美, 杉田 亮平, 廣瀬 農, 大西 美輪, 手塚 あゆみ, 出口亜由美, 小菅 桂子, 石崎 公庸, 深城 英弘, 田野井 慶太郎, 中西 友子, 馬場 啓一, 三村 徹郎, 永野 惇
2. 発表標題 ポプラの短期落葉 - 開芽系を用いた季節的なリン酸転流機構の解明と野外RNA-seqとの比較
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuko Kurita, Ayumi Tezuka, Ayumi Deguchi, Miwa Ohnishi, Kimitsune Ishizaki, Hidehiro Fukaki, Kei'ichi Baba, Tetsuro Mimura, Atsushi J. Nagano
2. 発表標題 Comparison of seasonal transcriptome of poplar trees (<i>Populus alba</i> . L) grown in field or a laboratory system.
3. 学会等名 6th Plant Dormancy Symposium 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

放射性同位体を用いたポプラの季節的なリン酸転流経路の可視化 https://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/topics_20220415-1.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
---------	---------