

平成22年 4月20日現在

研究種目： 基盤研究（A）
研究期間： 2007～ 2010
課題番号： 19208007
研究課題名（和文） イネのアンモニア同化と窒素リサイクル機構の解明による窒素利用効率の向上
研究課題名（英文） Improvement of nitrogen-use-efficiency based on molecular mechanisms of ammonium assimilation and nitrogen recycling system in rice
研究代表者： 山谷 知行（YAMAYA TOMOYUKI）
東北大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号： 30144778

研究代表者の専門分野：植物分子生理学

科研費の分科・細目： 農芸化学・植物栄養学・土壌学

キーワード： イネ、アンモニア同化、窒素リサイクル機構、窒素利用効率、遺伝子破壊、サイトゾル型グルタミン合成酵素、NADH-グルタミン酸合成酵素

1. 研究計画の概要

本研究では、イネのゲノム解析完了に伴って新規に見いだされたサイトゾル型グルタミン合成酵素（GS1;3）とグルタミン酸合成酵素（NADH-GOGAT2）の機能解明と、窒素利用効率向上に関わる統合的な分子基盤を構築することを目的としている。主に、遺伝子破壊変異体の活用と、窒素利用効率の制御に関わる新規遺伝子の探索と機能を明らかにする計画である。

2. 研究の進捗状況

研究は順調に進んでおり、GS1;3 や NADH-GOGAT2 のみならず GS1;2 や NADH-GOGAT1 の遺伝子破壊変異体を獲得し、解析を進めている。GS1;3 は種子特異的な発現を示すが、この遺伝子を欠損した変異体は、登熟までは野生型の生育状況とほとんど変わらず、種子の登熟過程では大きな役割を持っていないことも推定される。得られた種子を用いて、今後、発芽過程での貯蔵タンパク質などの減少や発芽速度などを詳細に解析し、機能を推定する予定である。NADH-GOGAT2 の遺伝子を欠損した変異体は、圃場で登熟期まで育成すると、特に穂重の減少が顕著であることが判明した。表現型の詳細な解析や、相補試験を今後行い、機能の証明をしていく予定である。他の、GS1;2 や NADH-GOGAT1 の遺伝子を欠損した変異体も、それぞれ特徴のある表現型を示した。GS1;2 は主に根で発現するが、この遺伝子を欠損した変異体は、窒素欠乏類似の表現型を示し、特に分けつ数の抑制が顕著であった。

NADH-GOGAT1 遺伝子欠損変異体は、穂数と穂重の減少が顕著であった。このように、それぞれのイソ酵素は、イネの窒素利用過程において、それぞれ異なる機能を持っている事実を今後証明できる予備的結果が揃った。また、順遺伝学的手法により、アンモニウムに応答して根の伸長・バイオマス・窒素吸収を制御する原因遺伝子も第6染色体長腕から染色体置換システムを用いて、最終的に単離でき、Zn フィンガー型転写活性化因子をコードする遺伝子であることがわかった。転写活性化因子であることは、酵母の系を用いて証明できた。現在、その機能解明を更にすすめている。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

（理由）：関連する遺伝子破壊変異体全てを獲得できたことと、窒素利用効率の向上に関わる原因遺伝子を単離できたことによる。

4. 今後の研究の推進方策

関連する遺伝子発現や表現型を詳細に調査するとともに、機能相補実験を行って各遺伝子機能を明らかにする。また、システム生物学的な解析を推進し、特に炭素代謝やエネルギー代謝と窒素代謝のバランスの重要性を評価する。窒素利用効率の向上に関わる遺伝子に関しては、特に低窒素環境における生産性に注目して解析を進める。

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 7 件)

1. Obara, M., Tamura, W., Ebitani, T., Yano, M., Sato, T. and Yamaya, T. Fine-mapping of *qRL6.1*, a major QTL for root length of rice seedlings grown under a wide range of NH_4^+ concentration in hydroponic conditions. Theoretical Applied Genetics, in press, (2010) 査読有

2. Tamura, W., Hidaka, Y., Tabuchi, M., Kojima, S., Hayakawa, T., Sato, T., Obara, M., Kojima, M., Sakakibara, H. and Yamaya, T., Reverse genetics approach to characterize a function of NADH-glutamate synthase1 in rice plants. Amino Acids, in press, (2010) 査読有

3. Takahashi, H., Takahara, K., Hashida, S., Hirabayashi, T., Fujimori, T., Kawai-Yamada, M., Yamaya, T., Yanagisawa, S. and Uchimiya, H., Pleiotropic modulation of carbon and nitrogen metabolism in Arabidopsis plants overexpressing *NAD kinase 2* gene. Plant Physiol, 151: 100-113 (2009) 査読有

4. Kudo, T., Kawai, A., Yamaya, T. and Hayakawa, T., Cellular distribution of ACT domain repeat protein 9, a nuclear localizing protein, in rice (*Oryza sativa* L.). Physiol. Plant. 133: 167-179 (2008). 査読有

5. Sugawara, H., Ueda, N., Kojima, M., Makita, N., Yamaya, T. and Sakakibara, H., Structural insight into the reaction mechanism and evolution of cytokinin biosynthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105: 2734-2739 (2008). 査読有

6. Suzuki, Y., Ohkubo, M., Hatakeyama, H., Ohashi, K., Yoshizawa, R., Kojima, S., Hayakawa, T., Yamaya, T., Mae, T. and Makino, A. Increased Rubisco content in transgenic rice transformed with "sense" *rbcS* gene. Plant Cell Physiol. 48: 626-637 (2007). 査読有

7. Tabuchi, M., Abiko, T. and Yamaya, T., Assimilation of ammonium-ions and re-utilization of nitrogen in rice (*Oryza sativa* L.). J. Exp. Bot. 58: 2319-2327 (2007). 査読有

〔学会発表〕 (計 39 件)

1. 山谷知行, イネの窒素飢餓ストレス、日本土壤肥料学会2009年度京都大会シンポジウム「植物のミネラルストレス応答」、2009年9月15-17日、京都 (招待講演)

2. Yamaya, T., Function of glutamine synthetase

and glutamate synthase in rice plants. 11th International Congress on Amino Acids, Peptides and Proteins, 2009年8月3-7日, Vienna, Austria (招待講演)

3. Yamaya, T., Molecular mechanisms for plant biomass production - rice as a model plant. UCR Tech Horizon 2008 Conference, 2008年5月13-14日, UC Riverside, CA, USA (招待講演)

4. Obara, M. and Yamaya, T., Genetic and physiological approach of nitrogen utilization toward improving environmental adaptation of rice. Workshop on Development of Environmentally-friendly Water-saving Technologies for Rice, 2008年7月18日, Tsukuba, Japan (招待講演)

5. Yamaya, T., Assimilation of ammonium ions and re-utilization of nitrogen in rice. Nitrogen2007 - An International Symposium on the Nitrogen Nutrition of Plants, 2007年7月27-31日, Lancaster University, UK (招待講演)

〔図書〕 (計 4 件)

1. Kojima, K., von Wiren, N. and Yamaya, T., Research Signpost 社, India, Ammonia absorption and assimilation in plants, In: "Nitrogen Assimilation in Plants", 2010, 印刷中

2. 山谷知行、文永堂出版、細胞内アンモニア代謝、アンモニアトランスポーター、「植物栄養学 第2版」間藤徹、馬建鋒、藤原徹編、2010年、印刷中

3. 山谷知行、朝倉書店、b 窒素代謝、「植物の百科事典」、2009、16 ページ (全 552 ページ)

4. 山谷知行、朝倉書店、1.2 物質代謝、「植物の百科事典」、2009、13-14 ページ (全 552 ページ)

〔その他〕

ホームページ

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/cellbio/index-j.htm>