

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05751

研究課題名(和文) ナチュラルバリエーションとイオンビーム変異体を利用したマグネシウム吸収機構の同定

研究課題名(英文) Characterization of Mg uptake mechanism utilizing the natural accessions and the ion-beam irradiated mutants

研究代表者

小林 奈通子 (Kobayashi, Natsuko)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授

研究者番号：60708345

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：地上部のマグネシウム濃度が低いイネ変異体の1番染色体上にはlong deletionがあり、この領域には2つの遺伝子が含まれていた。そこで、ゲノム編集にてそれぞれをノックアウトした変異体を作成したところ、zinc fingerタンパク質をコードする遺伝子の欠損が、マグネシウム含量低下の原因と確認された。マグネシウム動態に関わるzinc fingerタンパク質が同定されたのはこれが初めてである。低マグネシウム品種Ove-0と高マグネシウム品種Col-0のゲノムを用いてQTL-seq解析を実施し、マグネシウム濃度を制御する遺伝子座が5番染色体の0-2.3 Mbの領域に存在することを突き止めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多量必須元素であるマグネシウムの吸収や体内動態を司る複数のイオン輸送体は同定されているが、それらが協調してマグネシウムの濃度を制御する仕組みはよくわかっていない。本研究で発見したイネの遺伝子は、微生物や哺乳類にも相同遺伝子が存在するが、これまでにマグネシウム動態への関与が示されたことはない。また、シロイヌナズナにおける候補領域にも、マグネシウムに関係する既知の遺伝子は座上しておらず、マグネシウムの濃度制御に関わる新規の因子の発見が予想される。近年、主要穀物中のマグネシウム濃度は低下の一途をたどっており、これらの遺伝子の情報は高マグネシウム品種の開発につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：A long deletion was found on chromosome 1 of the ion-beam irradiated rice mutant with low magnesium concentration in the shoot part. Due to this deletion, two genes are lost in the mutant. So, we have generated knockout mutants, and identified the gene coding a zinc finger protein as the causal gene for low magnesium phenotype. This is the first time that a zinc finger protein involved in magnesium dynamics in plants has been identified. QTL-seq analysis was performed on the genomes of the low-magnesium Arabidopsis variety Ove-0 and the high-magnesium variety Col-0, and the locus that regulates magnesium concentration was found to be located in the 0-2.3 Mb region of chromosome 5.

研究分野：放射線植物生理学

キーワード：マグネシウム イネ シロイヌナズナ MutMap QTL-seq

1. 研究開始当初の背景

農作物の安定的生産のためにも、変動する環境の中で植物がミネラルを恒常的に獲得するメカニズムの理解は非常に重要であり、根からの吸収に関わる分子機構が無機元素ごとに調べられてきた。このような研究の成果は、植物の成長制御機構を理解する上での基礎的知見となる。体内の濃度がカリウムに次いで二番目に高い陽イオンがマグネシウムであるが、マグネシウムの獲得や体内濃度を適切に保持する仕組みについては不明な点が多い。いくつかのマグネシウム輸送体については、その欠損が植物のマグネシウム濃度を低下させることから、マグネシウムの吸収に関与すると考えられているが、実際の役割については未解明である。

2. 研究の目的

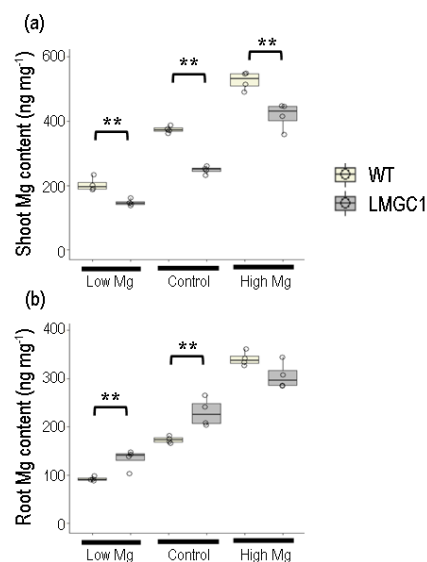
根においてマグネシウム吸収を担う分子機構の同定を目指し、これまでに植物体内のマグネシウム濃度が低いイネ・イオンビーム変異体や、シロイヌナズナ・エコタイプを取得してきた。本研究では、これら、独自に取得してきた低マグネシウム変異体やエコタイプにおけるマグネシウム吸収特性の把握と、低マグネシウム遺伝子座の特定を目的とした。

3. 研究の方法

イネとシロイヌナズナそれぞれのマグネシウム吸収速度を、放射性マグネシウムである ^{28}Mg を用いたトレーサー実験で測定した。これにより、植物体内のマグネシウム濃度低下の原因が、マグネシウム吸収速度の低下にあることを確認した上で、原因遺伝子の特定を進めた。イネについては、 ^{28}Mg を用いた Flux 測定法も確立し、解析対象とする変異体のマグネシウムの吸収 (Net flux) 速度低下の原因がマグネシウムの流入 (Influx) 速度の低下にあるのか、排出 (Efflux) 速度の上昇にあるのかを判断した。イネ変異体の原因遺伝子は MutMap 法で、また、シロイヌナズナのマグネシウム濃度品種間差の原因となる遺伝子座は QTL-seq 法での特定を試みた。

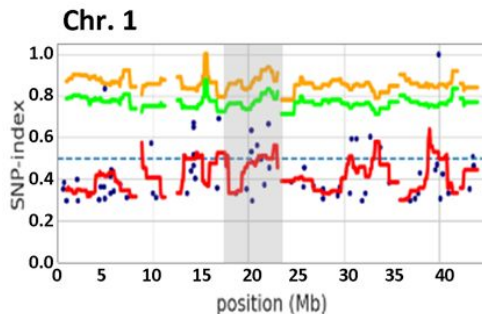
4. 研究成果

イネの低マグネシウム変異体 (LMGC1) は、地上部のマグネシウム濃度が低いことを指標に選抜したが、本研究での詳細な解析により、地上部のマグネシウム濃度が低い一方で、根のマグネシウム濃度は高まっていることが分かった。また、播種後 6 日目で葉が未展開である幼植物において、マグネシウム吸収速度が既に約半分に低下していること、そして、これはマグネシウムの流入 (Influx) 速度の低下によるものであることが明らかとなった。野生型株 (コシヒカリ) への戻し交雑によって取得した F2 集団を水耕栽培し、地上部のマグネシウム濃度を測定したところ、高マグネシウム個体と低マグネシウム個体がおおよそ 3:1 の割合で得られた。そこで、それぞれから 10 個体を選んでゲノムを抽出し、MutMap 解析を実施したところ、1 番染色体に明確なピークが見られた。この領域につ

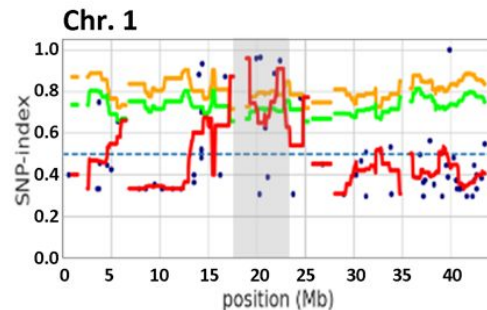


いて詳細に調査したところ、低マグネシウム個体には約 7 kbp の欠失領域が見つかり、ここには 2 つの遺伝子が座上していることが分かった。そこで、これらの 2 つの遺伝子を個々にノックアウトした変異体をゲノム編集にて作出し、地上部のマグネシウム濃度を調べた。その結果、Zinc finger タンパク質をコードする遺伝子の欠損が、低マグネシウム濃度の原因であることが判明

High Mg bulk



Low Mg bulk



した。この遺伝子 (OsRZF1) は地上部と根の両方で発現しており、タンパク質は細胞質に局在していた。マグネシウム濃度維持に関わる Zinc finger タンパク質はこれまでに報告がないため、今後、OsRZF1 の解析によってマグネシウムの吸収や地上部への輸送に関わる新たな分子メカニズムの解明につながると期待される。

シロイヌナズナの葉のマグネシウム濃度を指標とし、高マグネシウム品種として Col-0、低マグネシウム品種として Ove-0 と Is-0 を選抜した。Col-0 と Ove-0 間、および Col-0 と Is-0 間の交雑後代の集団を用いて QTL-seq 解析を行ったところ、5 番染色体上の共通の領域にピークが検出された。この領域には 100 以上の遺伝子がコードされているが、マグネシウムとの関連が示されている遺伝子は含まれていなかった。今後、この領域の詳細な解析を進めることで、シロイヌナズナのマグネシウム濃度の品種間差を説明できる新たな因子が明らかになると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ogura Takaaki, Kobayashi Natsuko I., Hermans Christian, Ichihashi Yasunori, Shibata Arisa, Shirasu Ken, Aoki Naohiro, Sugita Ryohei, Ogawa Takahiro, Suzuki Hisashi, Iwata Ren, Nakanishi Tomoko M., Tanoi Keitaro	4. 巻 11
2. 論文標題 Short-Term Magnesium Deficiency Triggers Nutrient Retranslocation in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2020.00563	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Xiaoyu Yang, Natsuko I. Kobayashi, Yoshiki Hayashi, Koichi Ito, Yoshitaka Moriwaki, Tohru Terada, Kentaro Shimizu, Motoyuki Hattori, Ren Iwata, Hisashi Suzuki, Tomoko M. Nakanishi, Keitaro Tanoi	4. 巻 -
2. 論文標題 Mutagenesis Analysis of GMN Motif in Arabidopsis Mg ²⁺ Transporter AtMRS2-1	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Natsuko I. KOBAYASHI, Xiaoyu YANG, Ren IWATA, Hisashi SUZUKI, Tomoko M. NAKANISHI, Keitaro TANOI	4. 巻 -
2. 論文標題 Development of the practical method for ion influx, efflux, and net flux measurement in plant roots	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Radioisotopes	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Takaaki Ogura, Natsuko I. Kobayashi, Hisashi Suzuki, Ren Iwata, Tomoko M. Nakanishi and Keitaro Tanoi
2. 発表標題 Low magnesium conditions rapidly induce high-affinity magnesium transport system in Arabidopsis roots
3. 学会等名 18th International Workshop on Plant Membrane Biology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akane Kodaka, Natsuko I. Kobayashi, Toru Kudo, Misako Kato, Keitaro Tanoi
2. 発表標題 Identification of QTL Regulating Leaf Magnesium Concentration by Using Natural Accessions in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林 奈通子, 高木 宏樹, 大西 孝幸, 鈴木 寿, 岩田 練, 市橋 泰範, 横井 彩子, 土岐 精一, 中西 友子, 田野井 慶太郎
2. 発表標題 マグネシウム含量が半減するイネ変異体の解析
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林 奈通子, 鈴木 寿, 岩田 練, 中西 友子, 田野井 慶太郎
2. 発表標題 植物の根におけるイオン動態のRIトレーサーによる定量解析
3. 学会等名 第58回アイソトープ・放射線研究発表会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分担者	市橋 泰範 (Ichihashi Yasunori) (20723810)	国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・チームリーダー (82401)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	小堀 峻吾 (Kobori Shungo) (20792691)	国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・開発研究員 (82401)	2019年度途中に理研退職により分担者削除

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			
中国	Fudan University			