

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：12701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450501

研究課題名(和文) 高ヨウ素栄養作物の作出に向けたヨウ素蓄積関連遺伝子の単離と解析

研究課題名(英文) Identification of iodine accumulation-related genes for the production of iodine-rich crops

研究代表者

中村 達夫 (Nakamura, Tatsuo)

横浜国立大学・大学院環境情報研究院・准教授

研究者番号：50334636

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：必須栄養であるヨウ素の欠乏は世界的な健康問題である。本研究の最終目標はヨウ素欠乏症の解決に貢献するための高ヨウ素栄養作物の育種である。植物におけるヨウ素蓄積に関する分子機構や関連する遺伝子は十分に明らかにされていないため、本研究では、モデル系としてシロイヌナズナを用いた遺伝学的アプローチにより、ヨウ素蓄積に関わる遺伝子の同定を試みた。シロイヌナズナ実生の地上部と根のヨウ素蓄積と関連のあるゲノム領域をいくつか見出すことができた。

研究成果の概要(英文)：Deficiency of iodine, an essential micronutrient, is a global health issue. The goal of this study is to develop iodine-rich crops to contribute to the eradication of iodine deficiency. Since molecular mechanisms and genes related to iodine accumulation in plants are not fully understood, this study aimed at identification of genes related to iodine accumulation by a genetic approach using *Arabidopsis thaliana* as a model system. Several genomic regions probably associate with iodine accumulation in shoot or root of *Arabidopsis* seedlings were identified.

研究分野：植物分子生理学

キーワード：植物 ヨウ素 遺伝学

1. 研究開始当初の背景

ヨウ素は人の必須栄養素であり、甲状腺ホルモンに含まれる。ヨウ素が欠乏すると、十分量の甲状腺ホルモンが合成できず、精神発達の遅滞、甲状腺腫や重篤なクレチン症などが引き起こされる。海に囲まれた日本列島に居住し、ヨウ素を多く含む海藻を食する日本人には聞き慣れないヨウ素欠乏症であるが、大陸の内陸部や山岳地帯においては大きな問題となっている¹。欧米などの多くの先進国では、小売店で容易に入手できるヨウ素添加食塩の利用が、欠乏症の予防に大きな成果を挙げている。しかし、発展途上国を中心に、経済的、技術的要因などにより、ヨウ素添加食塩の生産や流通に必要な社会基盤が整備されておらず、ヨウ素添加食塩の普及が困難な状況にある国もある²。

本研究では、ヨウ素欠乏症の予防に貢献するために、高ヨウ素栄養作物を育種することを最終目標としている。私達はこれまでに、ヨウ化物イオンに対するメチル化活性を持つ酵素遺伝子を破壊したシロイヌナズナにおいて、ヨウ素含量が上昇することを示している(中村達夫ほか、ヨウ素高含有植物の作製方法、特許第 5692695 号)。高ヨウ素栄養作物を計画的に育種するためには、ヨウ素蓄積に関与する遺伝子を包括的に同定し、ヨウ素蓄積の分子機構を明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

モデル植物のシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の多様な生態型コレクションが利用可能であるため、それらを活用し、生態型間に存在するヨウ素蓄積量の自然変異を遺伝学的に解析することで、ヨウ素蓄積に関連する遺伝子に関する知見を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 植物材料

約 300 のシロイヌナズナ生態型およびシロイヌナズナ T-DNA 挿入系統の種子は、Arabidopsis Biological Resource Center (ABRC) または The Nottingham Arabidopsis Stock Centre (NASC) より入手し、増殖した種子を解析に用いた。

(2) 表現型解析

各シロイヌナズナ生態型は、ゲランガム培地において無菌条件下で 2 週間生育させた後、サンプリングを行い地上部と根に分離した。水酸化テトラメチルアンモニウムを用いて、ヨウ素の抽出を行い、誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) を用いてヨウ素含量の解析を行った。ヨウ素以外にも定量可能な元素については、同時に ICP-MS を用いて定量解析を行った。

(3) ゲノムワイド関連解析

本研究で用いたシロイヌナズナ生態型の一塩基多型 (SNPs) データ^{3,4}と、上述の(2)で得た各生態型のヨウ素含量に関する表現型データを用いて、ゲノムワイド関連解析を行った。

4. 研究成果

高密度 SNP やゲノム配列情報が利用可能なシロイヌナズナ生態型の数は、近年のゲノム解析技術等の進展により急速に増加している。シロイヌナズナ生態型の多型情報を利用するゲノムワイド関連解析を用いて、シロイヌナズナのヨウ素蓄積に関連する遺伝子に関する知見を得るために、まずヨウ素蓄積の表現型解析を行った。シロイヌナズナ実生の地上部と根についてヨウ素含量を定量したところ、生態型間で、地上部および根のヨウ素含量に多様性が見出された(図 1)。このような分布は、ヨウ素含量の表現型データを用いたゲノムワイド関連解析に適している

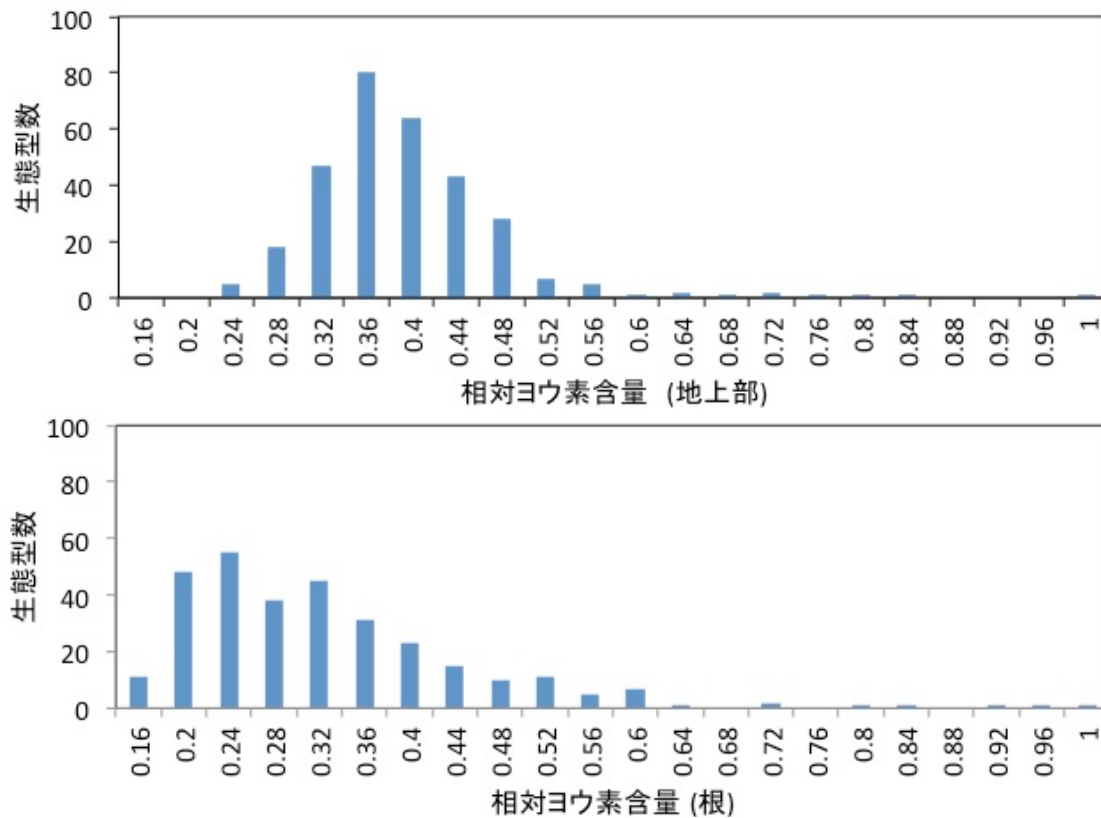


図1 シロイヌナズナ生態型間のヨウ素含量の分布
無菌条件で2週間生育させたシロイヌナズナ生態型の地上部と根のヨウ素含量の相対値の分布を示した。

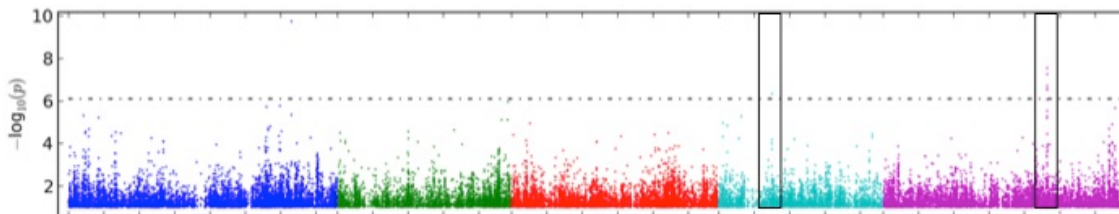


図2 ヨウ素含量のゲノムワイド関連解析の結果を示すマンハッタンプロット
シロイヌナズナ実生の地上部のヨウ素含量をもとにゲノムワイド関連解析を行った。関連性が有意な SNPs からなるピークを枠で示した。

と予想された。

ゲノムワイド関連解析法の妥当性を確認するために、ヨウ素含量と同時に ICP-MS で定量したナトリウム含量の表現型データを用いて解析を行ったところ、遺伝子の改変がナトリウム含量に影響を与えることが既に知られている *AtHKT1* 遺伝子⁵の転写開始点の約 6.5kb 上流に、有意な関連性を示す SNP を検出することができた。このことから、ゲノムワイド関連解析がヨウ素蓄積の表現型デ

ータを用いた場合においても機能することが期待された。

ヨウ素蓄積に関する表現型データを用いてゲノムワイド関連解析をおこなったところ、ヨウ素蓄積との有意な関連性を示した SNP が、ゲノムの複数領域で検出された。シロイヌナズナ実生の地上部の表現型データを用いた解析例を図2に示した。ヨウ素蓄積との有意な関連が示された SNP を含む各連鎖不平衡ブロックには、ヨウ素蓄積との関連を

容易に推定できるアノテーションを有する遺伝子は見いだせなかった。

検出した SNP を含む各連鎖不平衡ブロックには複数の遺伝子が存在するため、ヨウ素蓄積に関連する遺伝子を特定する必要がある。そこで、各連鎖不平衡ブロック ($LD r^2 > 0.3$) に含まれる遺伝子に着目し、入手可能なシロイヌナズナの T-DNA ホモ挿入系統 (約 30 系統) について、ヨウ素含量の表現解析を行った。その結果、野生型シロイヌナズナと比較してヨウ素含量に差異を示した T-DNA 挿入系統がいくつか示されたが、それらの差異は予想されたものより小さかった。この結果より、今回 T-DNA 挿入系統を用いて解析を行った遺伝子ではなく、T-DNA 挿入系統が入手できなかった遺伝子の中に責任遺伝子が含まれる可能性が示唆された。今後は、ゲノムワイド関連解析で見出した、ヨウ素蓄積との関連性が有意な SNP の周辺に位置する遺伝子群について、各生態型のゲノム配列から多型情報と、それらの多型による影響 (発現量の差異、アミノ酸置換、フレームシフト、等) を抽出し比較解析することで、責任遺伝子候補を可能な限り絞り込むと同時に、knock-out/knock-down 株や過剰発現株の作製と、ヨウ素含量等の表現型の解析により責任遺伝子を同定する。

<引用文献>

1. Zimmermann, M. B. & Boelaert, K. Iodine deficiency and thyroid disorders. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **3**, 286-295 (2015).
2. de Benoist, B., McLean, E., Andersson, M. & Rogers, L. Iodine deficiency in 2007: global progress since 2003. *Food Nutr. Bull.* **29**, 195-202 (2008).
3. Horton, M. W. *et al.* Genome-wide patterns of genetic variation in worldwide *Arabidopsis thaliana*

accessions from the RegMap panel. *Nat. Genet.* **44**, 212-216 (2012).

4. Alonso-Blanco, C. *et al.* 1,135 genomes reveal the global pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* **166**, 481-491 (2016).
5. Mäser, P. *et al.* Altered shoot/root Na⁺ distribution and bifurcating salt sensitivity in *Arabidopsis* by genetic disruption of the Na⁺ transporter *AtHKT1*. *FEBS Lett.* **531**, 157-161 (2002).

5. 主な発表論文等

[その他]

ホームページ等

横浜国立大学大学院 環境情報研究院 自然環境と情報部門 植物分子生理学研究室ホームページ

<https://sites.google.com/site/tatsuonakamuralab/home/projects>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 達夫 (Nakamura, Tatsuo)

横浜国立大学・大学院環境情報研究院・准教授

研究者番号 : 50334636