

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 栄養シグナルによる植物代謝制御の分子基盤

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

柳澤 修一(東京大学大学院農学生命科学研究科 准教授)

主たる共同研究者

射場 厚(九州大学大学院理学研究院 教授)

重岡 成(近畿大学農学部 教授)

川合 真紀(埼玉大学大学院理工学研究科 准教授)

3. 研究実施概要

炭酸ガスや硝酸イオンといった無機物は植物栄養として生体物質の生合成に用いられるだけでなく、遺伝子発現の制御や代謝調節に関わるシグナル分子として植物の生長や物質の生産に深く関与している。また、無機物から生合成された糖やアミノ酸なども栄養シグナル分子として機能し、植物の生長と物質生産の調節に関わっている。高等植物における栄養シグナルに基づいた物質生産の仕組みを明らかにするために、代謝バランスを改変した遺伝子組み換え植物のメタボローム解析により炭素と窒素の同化経路間の相互制御の解析を行い、また、プロテオーム解析やシロイヌナズナ変異株を利用した解析による栄養シグナル伝達および応答機構の構成因子の検索を行った。

代謝バランスを改変した植物としては、Dof1 転写因子遺伝子の導入により窒素同化能力改変シロイヌナズナ、ラン藻由来の光合成回路の酵素フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ(FBP/SBPase)の遺伝子を葉緑体で発現させることにより光合成能力を強化したタバコ、NAD キナーゼ(NADK)過剰発現によるエネルギーバランス改変植物などを用いた。Dof1 遺伝子導入シロイヌナズナのターゲットメタボローム解析は、他の制限因子が存在しない場合には窒素同化のために必要な炭素骨格のプールが大きくなると同調的に炭素、窒素及びイオウの同化が促進されることを明らかにし、一つの遺伝子操作により同調的に植物栄養元素の同化能力の向上を図れることを示した。一方で、FBP/SBPase 遺伝子の導入により光合成能力を強化したタバコとシロイヌナズナの解析結果は、光合成量の増大に見合った同化窒素量の増大をもたらす可能性を示唆した。このような光合成の促進による窒素同化の促進はカーボンフローの増大によって説明されるが、Dof1 遺伝子導入シロイヌナズナで見られた窒素同化産物の増量に伴う光合成能力の強化のメカニズムは未だ不明である。しかしながら、その手がかりは葉緑体局在型 NADK(NADK2)過剰発現イネの解析により得られた。この解析結果は葉緑体内の NADP(H)プールの大きさと最大利用可能な光エネルギーには相関があり、NADK2 過剰発現により最大利用可能な光エネルギーが大きくなることが示された。Dof1 形質転換体でも利用可能な光エネルギー量が大きくなっていると見られたことから、代謝バランス改変によって、より多くの光エネルギーが利用可能となることが光合成能力の強化と結びつく可能性が示唆された。一方で、モデル植物であるシロイヌナズナだけでなく農業植物においても本研究で用いている同化能力強化の戦略によってバイオマスの向上が図れることも示した。

栄養シグナルの伝達と応答の機構の解析は、最も主要な栄養シグナルである炭素シグナル(CO₂と糖)と窒素シグナル(硝酸)に焦点をあてて実施した。まず、CO₂ 非感受性変異株のスクリーニングを行う新規なスクリーニング方法を開発し、CO₂シグナル伝達機構に特異的に関連する因子を初めて同定してCO₂シグナル伝達機構が高等植物に存在することを実証した。一方で、糖シグナルの伝達あるいは応答に関わる新規核内因子を同定

するために、ナノスケールでの植物タンパク質のプロテオーム解析を行う方法を確立してイネ核タンパク質のプロテオーム解析を行い、単子葉植物と双子葉植物の両方で糖応答機構に関わる因子の候補として 3 つの核内タンパク質を見いだした。これらは WD40 リピート含有タンパク質あるいはアルマジロリピート含有タンパク質であることから他のタンパク質との相互作用を行って糖応答に関わっていることが考えられた。この他にシロイヌナズナの糖応答変異株の解析も行い、糖シグナル応答機構に関する新しい知見も得ている。硝酸シグナル伝達機構の解明には硝酸シグナルによって直接的に活性化される遺伝子である亜硝酸還元酵素遺伝子などのプロモーター解析を行い、高等植物の真の硝酸応答シス配列を初めて同定すると同時に、この配列に結合する硝酸応答のための転写因子候補も同定した。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

窒素同化に必要な転写因子 Dof1、炭素固定能力を強化する FBP/SBPase、NAD リン酸化酵素 NADK2 を発現するモデル植物シロイヌナズナのメタボローム解析などにより、植物の炭素/窒素/硫黄の各同化システムに相互依存性があることを明らかにするとともに、一つの遺伝子操作により同調的に複数の同化能力を強化して植物の物質生産能力を高めることが可能となることを明らかにした。さらに実際の農業植物であるバレイショ(Dof1 遺伝子導入バレイショ)やイネ(NADK2 過剰発現イネ)でバイオマスの増加を確認した。栄養シグナルの伝達機構に関しても、炭酸ガスの感知に関する突然変異株を分離・解析することにより炭酸ガスのシグナル伝達機構が高等植物に存在することを始めて明らかにし、また、糖シグナルや硝酸シグナルについて関与する新しい分子の同定も行われた。研究は当初の目標に沿って進められ、概ね達成できたものと判断する。研究代表者だけでなく分担研究者も含め、高いレベルのジャーナルへの論文発表(欧文原著論文45件)、並びに国内外での口頭発表が多数行われた。2008年には8件のマスコミ報道も行われた。

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

植物の物質生産を担う光合成と窒素代謝が相互に依存することを明らかにし、一つの遺伝子操作で複数の同化能力を増強してバイオマスを増加させることを示すことができた成果は、環境負荷が少なく、効率の高い農作物生産に向けて貢献することが大いに期待できる。従って、科学技術としてのインパクトのみならず、今後地球規模で予想される食糧難対策として社会へのインパクトも極めて大きい。研究は、種々の形質転換植物とそのメタボローム解析やプロテオーム解析も取り入れて行われ、戦略目標に沿って着実に進められたと判断する。

4-3. 総合的評価

代謝バランス改変植物を用いたメタボローム解析などによる植物代謝の中心である光合成と窒素同化経路間の相互制御の解明と植物栄養シグナルの伝達と応答に関わる因子の同定とそれに関わる分子メカニズムについて、レベルの高い研究成果が得られた。また、これらの成果をバイオマス増加につなげる試みとして、バレイショやイネなどの実用植物を用いて検証したできたことも評価できる。研究代表者と共に他のグループもそれぞれ優れた成果を挙げ、研究代表者と重岡グループとの連携では目に見える成果を挙げたが他のグループとの連携に関しては十分ではなかった点が悔やまれる。しかし、総合的に見て、期待通りの成果が得られたものと評価できる。植物の生産性の向上は重要なテーマであり、特に窒素同化に関する研究は今後ますます期待されるものとなる。本研究は、JST の A-STEP に採択されており、実用化に向けての更なる発展を期待する。