

窒素利用および光合成機能の向上による高生産・ 高品質型植物の作出のための分子栄養学的基礎研究

Molecular Approaches for the Improvement of Productivity and Quality of Plants by Studying Nitrogen Utilization and Photosynthesis (研究プロジェクト番号：JSPS-RFTF 96L00604)

プロジェクトリーダー

山谷 知行 東北大学大学院農学研究科・教授

コアメンバー

森川 弘道 広島大学理学部・教授

前 忠彦 東北大学大学院農学研究科・教授

中川 弘毅 千葉大学園芸学部・教授

メンバー

泉井 桂 京都大学大学院生命科学研究科・教授

田中 國介 京都府立大学農学部・教授

三枝 正彦 東北大学大学院農学研究科・教授

藤村 達人 筑波大学農林工学系・教授

内宮 博文 東京大学分子細胞生物学・教授



1. 研究目的

本研究プロジェクトでは、近未来において人類が直面する地球規模での食料不足を解決するために、植物の生産性と品質向上に関わる窒素利用機能と光合成機能に着目し、応用研究への基礎を確立することを目的とした。以下の3つの観点から、研究を推進した。

- (1) 窒素利用の分子機構と生産性・品質向上(山谷知行、森川弘道、中川弘毅、田中國介)
- (2) 光合成機能の分子機構と生産性向上(前忠彦、泉井桂、内宮博文、藤村達人)
- (3) 遺伝子組換え作物の形質評価目的での隔離圃場の造成(三枝正彦)

2. 研究成果概要

2.1 窒素利用の分子機構と生産性・品質向上

窒素の吸収同化、並びに植物体内での再利用系は、生産性や品質と密接に関わる。イネでは、穂に蓄積する窒素の約80%は老化器官からの転流に由来しており、この重要な窒素リサイクル機構で、老化器官ではサイトゾル型グルタミン合成酵素(GS1)が、また若い器官における窒素の再利用にはNADHグルタミン酸合成酵素(NADH-GOGAT)が鍵を握ることを、組織特異的な遺伝子発現や、形質転換イネを作出し、解明できた。NADH-GOGAT高発現インド型イネでは、収量増に結びついた。また、これらの量を決定する複数の遺伝子座(QTL)を、染色体上にマップした。図1には第2染色体のみを示した。

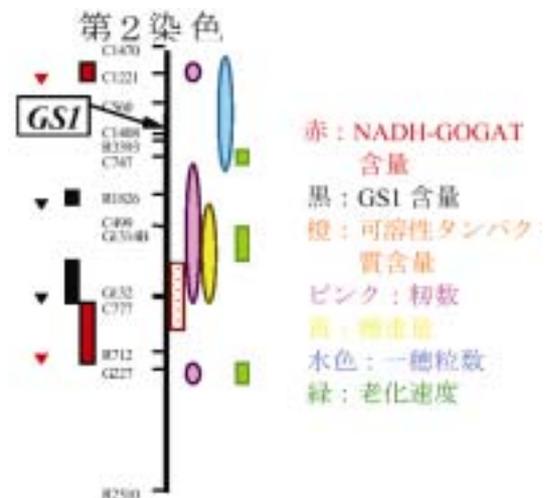


図1 イネ第2染色体上のQTL

品質向上の面からは、葉葉に含まれる硝酸イオンの軽減、大気中の二酸化窒素ガスの植物による浄化、イネの貯蔵タンパク質の改変などに関する成果が得られた。二酸化窒素ガスの浄化機構は、植物による積極的な環境修復にとって重要であり、未来を拓く研究である。

2.2 光合成機能の分子機構と生産性向上

光合成には、イネやコムギのようなC3型と、トウモロコシに代表されるC4型がある。現在の大气CO₂分圧下でC3光合成を律速するのは炭酸固定酵素であるRubiscoであるが、今世紀末には現在の2倍のCO₂になる予想が立てられている。CO₂濃度が上がれば、Rubisco量は過剰となるのが長期間の高CO₂栽培とアンチセンス法でRubisco含量を軽減した研究で判明し、光合成成分間での最適化が重要であることを示した。C4光合成では、CO₂固定酵素のPEPCaseの翻訳後活性制御系が重

要であった。これらの結果をもとに、10t/hrの生産量を示す品種を見いだした。

Rubiscoは炭酸固定のみならず、窒素リサイクルにおける窒素源としても重要である。転流の際にまず分解を受けるが、Rubisco分解機構は長い間不明であった。本研究により、Rubiscoは活性酸素により、活性中心付近の特定の場所で切断されることが初めて明らかにされた。

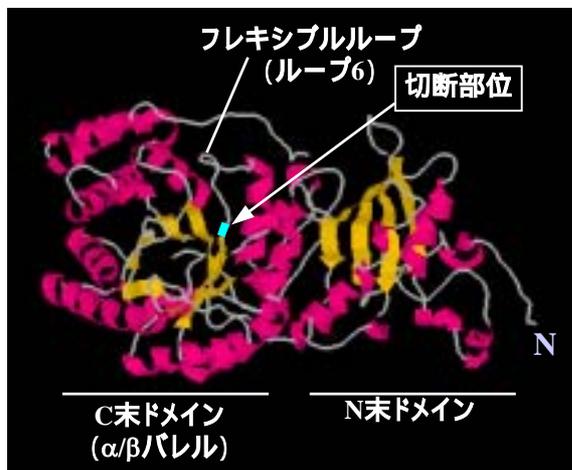


図2 Rubisco大サブユニットの切断部位

2.3 遺伝子組換え作物の形質評価目的での隔離圃場の造成

遺伝子組換え作物の圃場での栽培試験を可能とするために、旧文部省では初めての例となる隔離圃場を東北大学大学院農学研究科附属農場に造成した。本隔離圃場は、日本の代表的な土壌を3種類用いた比較的大規模な水田3区画と、畑2区画からなっている。平成12年度には、隔離温室、開放型温室で安全性を確認後、NADH-GOGAT アンチセンスRNAを発現するササニシキと、ピアラフォス耐性遺伝子を導入したイネ(ヤマホウシ)を実際に栽培し、形質を評価した。なお、栽培にあたり、マスコミおよび地元住民に説明会を開催し、パブリックアクセプタンスを得る努力をすると共に啓蒙活動も行った。



図3 東北大学に造成した隔離圃場

3. 結論

植物の生産性と品質の向上に関わる標的の特定を目指し、窒素利用と光合成機能の面から、標的分子の開拓を行い、実用化に向けた

分子基盤を築いた。同時に、隔離圃場を造成し、形質転換植物の圃場での評価法を開拓した。

主な発表論文

- (1) Tobin A.K. and Yamaya, T. (2001) Cellular compartmentation of ammonium assimilation in rice and barley. *J. Exp. Bot.*, 52: 591-604
- (2) Obara, M., Kajiwara, M., Fukuta, Y., Yano, M., Hayashi, M., Yamaya, T. and Sato, T. (2001) Mapping of QTLs associated with contents of cytosolic glutamine synthetase and NADH-glutamate synthase in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Exp. Bot.* 52: 1209-1217
- (3) H. Morikawa, A. Higaki, M. Nohno, M. Takahashi, M. Kamada, M. Nakata, G. Toyohara, Y. Okamura, K. Matsui, S. Kitani, K. Fujita, K. Irifune and N. Goshima (1998) More than a 600-fold variation in nitrogen dioxide assimilation among 217 plant taxa. *Plant Cell Environ.* 21:180-190
- (4) M. Takahashi, Y. Sasaki, S. Ida, H. Morikawa (2001) Nitrite reductase gene enrichment improves assimilation of NO₂ in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 126:731-741
- (4) Luo, S., H. Ishida, A. Makono, and T. Mae (2002) Fe²⁺-catalyzed site-specific cleavage of the large subunit of ribulose1,5-bisphosphate carboxylase close to the active site. *J. Biol. Chem.* 277: in press
- (5) H. Ishida, A. Makino and T. Mae (1999) Fragmentation of the large subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase by reactive oxygen species occurs near Gly-329. *J. Biol. Chem.* 274. 5222-5226.
- (6) Y. Yanagawa, A. Ohhashi, Y. Murakami, Y. Saeki, H. Yokosawa, K. Tanaka, J. Hashimoto, T. Sato, H. Nakagawa (1999) Purification and characterization of the 26S proteasome from cultured rice (*Oryza sativa*) cells. *Plant Sci.* 149: 33-41
- (7) Y. Ueno, E. Imanari, J. Emura, K. Yoshizawa-Kumagaye, K. Nakajima, K. Inami, T. Shibata, H. Sakakibara, T. Sugiyama, K. Izui (2000) Immunological analysis of the photophosphorylation state of maize C4-form phosphoenolpyruvate carboxylase with specific antibodies raised against a synthetic phosphorylated peptide. *Plant J.* 21: 17-26
- (8) T. Shiina, L. Allison, P. Maliga (1998) *rbcL* transcript levels in tobacco plastids are independent of light: Reduced dark transcription rate is compensated by increased mRNA stability. *Plant Cell* 10: 1713-1722