

[成果情報名] イネのアンモニア態窒素の吸収を向上させる遺伝子

[要約] 水田環境でアンモニア態窒素濃度が上昇すると、イネの根による窒素吸収能力は低下する。アンモニア態窒素吸収能力を調整する遺伝子 *OsACTPK1* を同定した。*OsACTPK1* の機能が失われた *actpk1* 変異体では、アンモニア態窒素の吸収が向上する。

[キーワード] アンモニア態窒素吸収、イネ、高親和的アンモニウム輸送

[所属] 国際農林水産業研究センター 生物資源・利用領域

[分類] 研究

[背景・ねらい]

窒素は作物の生育や生産性を大きく左右する最も重要な栄養素である。水田においてイネが主として利用するアンモニア態窒素は、「高親和的アンモニウム輸送 (HAT) 機構」と呼ばれるしくみによって吸収されている。水田のアンモニア態窒素濃度が少しでも上昇すると、イネの HAT 機構による窒素吸収能力は徐々に低下する。水田で生育しているイネの HAT 機構を高く維持させることができれば、イネはより多くの窒素を吸収できる可能性がある。そこで、イネの HAT 機構の調節に関わる遺伝子を同定し、HAT 機構の能力を維持できる遺伝子を単離することを目的とする。

[成果の内容・特徴]

1. HAT 機構の調節に関わる遺伝子の候補である *OsACTPK1* 遺伝子は、アンモニア態窒素 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) 濃度の増加にともない根での発現が増加する (表 1)。
2. *OsACTPK1* 遺伝子にトランスポゾン *Tos17* が挿入され *OsACTPK1* の機能が失われた *actpk1* 変異体を得た。水田で起こり得るほぼ最大のアンモニア態窒素濃度 $1,000 \mu\text{M}$ (18 ppm) 条件では、*actpk1* 変異体は、対照 (水稻品種「日本晴」) に比べ HAT 機構のアンモニア態窒素吸収の最大能力を示す V_{max} 値が約 2 倍であり (図 1A)、HAT 機構のアンモニア態窒素に対する反応性を示す K_m 値は対照と同程度である (図 1B)。
3. *actpk1* 変異体によるアンモニア態窒素の吸収量は、アンモニア態窒素濃度 $5 \mu\text{M}$ 区では対照と同程度であるが、 $1,000 \mu\text{M}$ 区では対照に比べ 32% 増加する (図 2A)。
4. *actpk1* 変異体における最も長い根 (最長根) の長さは、アンモニア態窒素濃度 $5 \mu\text{M}$ 区では対照と同程度であるが、 $1,000 \mu\text{M}$ 区では対照に比べ 22% 短くなる (図 2B)。*actpk1* 変異体の根では窒素の蓄積量が多くなるために、根の伸長にフィードバックがかかり、最長根の長さが抑制されると考えられる。
5. *OsACTPK1* 遺伝子は HAT 機構の調節に関わる遺伝子であり、*OsACTPK1* の機能が失われた *actpk1* 変異遺伝子は、HAT 機構の能力を高く維持させることができる (図 1、図 2)。

[成果の活用面・留意点]

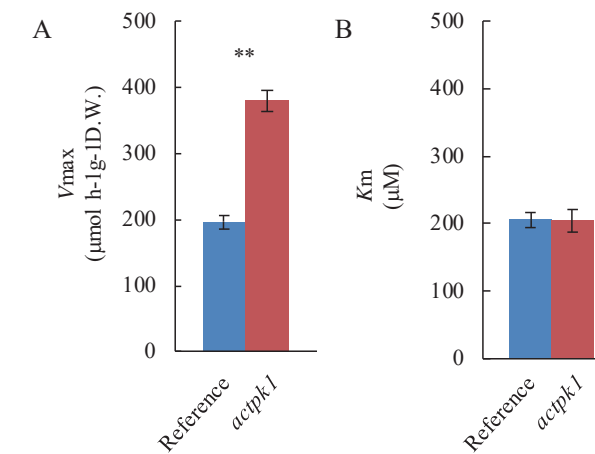
1. *actpk1* 変異遺伝子は、アンモニア態窒素が存在する水田環境でも、窒素の吸収を向上させることから、窒素肥料の利用効率を向上させる遺伝的改良の遺伝子源として利用できる。
2. 育種素材開発において、最長根長の低下は、HAT 機構の能力を高く維持していることの表現型マーカーとして用いることができる。
3. *OsACTPK1* は、植物体内に多く蓄積すると毒性を示すアンモニア態窒素を吸収しすぎないブレーキとしての調節機能を持つことから、*actpk1* 変異遺伝子はイネの生育に何らかの影響を与えることが懸念される。様々な水田環境における *actpk1* 変異体の窒素吸収と生産性を検証し、窒素吸収と生産性における *actpk1* 変異遺伝子の利点と欠点を明らかにする必要がある。

[具体的データ]

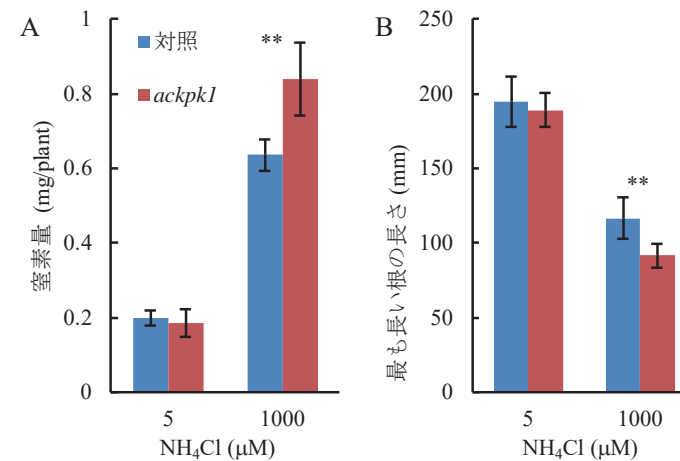
表 1 HAT 機構を調節する候補遺伝子である *OsACTPK1* 遺伝子の詳細

項目	詳細
アンモニア態窒素の増加に対する根での相対発現比	1,071 倍
遺伝子番号	Os02g0120100
タンパク質の機能	タンパク質リン酸化

イネのオリゴ DNA マイクロアレイ (4×44 K RAP-DB) を用いて、イネの根での発現量を相対的に比較した。5 および $1,000 \mu\text{M}$ NH_4Cl を与えて水耕法で 10 日間栽培した根から全 RNA を調整した。

図 1 *OsACTPK1* の機能を失った *actpk1* 変異体における HAT 機構

アンモニア態窒素濃度 $1,000 \mu\text{M}$ 条件で 10 日間栽培したイネの HAT 機構の最大反応速度 (V_{max}) (A) と、アンモニウムイオンに対する HAT 機構の親和性を示すミカエリス定数 (K_m) (B)。対照は日本晴、*actpk1* 変異体は *OsACTPK1* 遺伝子に *Tos17* が挿入された系統。グラフは 3-6 個体の平均値、エラーバーは標準誤差を示す。**は分散分析による $P < 0.01$ の有意性を示す。

図 2 *actpk1* 変異体における窒素蓄積量 (A) と根長 (B)

アンモニア態窒素濃度 $1,000 \mu\text{M}$ 条件で 10 日間栽培したイネの窒素量 (A) と最も長い根の長さ (B)。対照は日本晴、*actpk1* 変異体は *OsACTPK1* 遺伝子に *Tos17* が挿入された系統。グラフは 6 個体 (A)、14 個体 (B) の平均値、エラーバーは標準偏差を示す。**は分散分析による $P < 0.01$ の有意性を示す。

[その他]

研究課題：アフリカの食料問題解決のためのイネ、畑作物等の安定生産技術の開発

プログラム名：熱帯等の不良環境における農産物の安定生産技術の開発

予算区分：交付金 [アフリカ食料]、受託 [農水省・低コスト (LCT)]

研究期間：2017 年度 (2013~2020 年度)

研究担当者：小原実広、Marcel Pascal Beier・早川俊彦 (東北大学)

発表論文等：Beier M et al. (2018) The Plant Journal, No93:992-1,006