

トランスクリプトーム解析によるアイズプラントの CAM 型光合成駆動を制御する遺伝子群の探索

佐藤稜真^{1*D1}・竹内敬香^{2*D1}・近藤侑梨^{1M1}・John C. Cushman³・齋藤和幸⁴・東江栄⁴¹九州大学大学院生物資源環境科学府・²九州大学農学部・³ネバダ大学リノ校・⁴九州大学大学院農学研究院)**Search for genes (transcription factors and relative molecules) driving CAM photosynthetic system of the ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) using transcriptomics**Ryoma Sato^{1*D1}, Kyoka Takeuchi^{2 B4}, Yuri Kondo^{1 M1}, John C. Cushman³, Kazuyuki Saito⁴, Sakae Agaric⁴¹ Graduate school of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University, ²School of Agriculture, Kyushu University, ³Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Nevada, Reno, ⁴Faculty of Agriculture, Kyushu university)

【背景】アイズプラント(*Mesembryanthemum crystallinum* L.)は、海水と同程度の濃度の NaCl 存在下(300 mM)で光合成型を C3 から CAM に変換する通性 CAM 植物であり、環境ストレス適応型作物のモデルである。本研究では、トランスクリプトーム解析によって、導入ターゲットとなる CAM 型光合成関連遺伝子群の発現量を調節する転写因子及びその関連分子を明らかにした。特に、CAM 型光合成を律速するホスホエノールピルビン酸脱炭酸酵素(PEPC)及びその活性を制御する PEPC キナーゼ(*PPCK1*)に着目し、発現相関解析、ネットワーク解析、及び分子結合予測法を用いて、翻訳・非翻訳領域を含む転写調節機構の解明を試みた。

【材料及び方法】アイズプラントは、300 mM NaCl で計 21 日間処理し、CAM 型光合成を誘導した。7:30 並びに 15:00 に採取した葉身から RNA を抽出し、次世代シーケンサーに供試した。取得した 150 bp 程度の塩基配列及び公開データから構築した本種ゲノムを用いてトランスクリプトーム解析を実行した。塩基配列のゲノムへのマッピングには HISAT2(v2.2.1)、発現量推定には StringTie(v2.2.1)、多群間発現量比較には TCC(v1.36.0) 及び EBSeq(v1.36.0)を用いた。転写産物の機能推定には EnTAP(v0.10.8)及び遺伝子機能のエンリッチメント解析には topGO(v 2.41.0)を用いた。また、種々の転写因子の同定には PlantTFcat(<https://www.zhaolab.org/PlantTFcat/>)、非翻訳転写産物の同定は DeepPlnc 等を用い、種々の結合予測解析には pRIblast(v 0.0.2)及び Capsule-LPI (<http://39.100.104.29:8080/lpc/predict/>)等を用いた。

【結果と考察】4 処理区間(C3 朝, C3 昼, CAM 朝, CAM 昼)のいずれかで発現量が有意に変化する(FDR 値<0.05)転写産物を 5983 種類同定した。また、非翻訳転写産物である長鎖非翻訳 RNA(lncRNA)を 265 種類同定した。アイズプラントでは 2 種の PEPC 及び 2 種の PPCK1 をはじめ、38 種類の CAM 型光合成を駆動する転写産物が発現パターンに応じて 10 種類の群に分類された。2 種の酵素が属する群内で、最も高い確率で上流プロモータに結合すると予測された転写因子ファミリーは Dof ファミリーであり、2 種の PPCK1 との有意な発現相関が確認された($r^2>0.8$, P 値<0.001)。さらに、Dof 転写因子と結合し、有意な発現相関を示す($r^2=0.98$, P 値= 2.55×10^{-8})lncRNA が 1 種類予測された。本研究結果から、アイズプラントにおける数種類の Dof 転写因子が非翻訳産物と連携しながら CAM 型光合成を駆動することが示唆された。