

イネの Rubisco 小サブユニット遺伝子の窒素に応答した発現制御における転写因子 OsDREB1G の役割

宇都宮花菜子^{1*M2}・北川桜子^{2B4}・脇紀元^{2B4}・高倉脩^{1M2}・東江栄³・齋藤和幸³
(¹九州大学大学院生物資源環境科学府,²九州大学農学部,³九州大学大学院農学研究院)

Roles of a transcription factor OsDREB1G in the regulation of Rubisco small subunit gene expression in response to nitrogen in rice

Hanako Utsunomiya^{1*M2}, Sakurako Kitagawa^{2B4}, Hazime Waki^{2B4}, Shu Takakura^{1M2},
Sakae Agarie³ and Kazuyuki Saitou³

(¹Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Science, Kyushu University, ²Faculty of Agriculture, Kyushu University, ³Faculty of Agriculture (Graduate School), Kyushu University)

【背景および目的】 イネ (*Oryza sativa* L.) の核ゲノムには 5 コピーの Rubisco 小サブユニット (OsRBCS) 遺伝子 (*OsRBCS 1~5*) が存在する。*OsRBCS 2~5* 遺伝子は葉身で発現し、窒素レベルの増加に応答して発現量が上昇する。*OsRBCS 2~5* 遺伝子の 5' 上流領域には乾燥応答エレメント (DRE 因子) が存在し、転写因子である乾燥応答エレメント結合タンパク質 (DREB) が結合する。DREB 転写因子のうち、*OsDREB1G* 遺伝子は窒素レベルに応答して発現量が変化する。本研究では、*OsDREB1G* 遺伝子をノックアウトしたゲノム編集体を作成し、*OsRBCS* 遺伝子の発現を解析したところ、窒素環境に応じて *OsDREB1G* が *OsRBCS* 遺伝子の発現とバイオマスを制御していることが明らかとなったので報告する。

【材料および方法】 イネ品種日本晴より CRISPR/Cas9 により *OsDREB1G* ノックアウト系統を作成し、実験に用いた。

【結果および考察】 ゲノム編集体 *KO1-OsDREB1G-2-20* は、*OsDREB1G* 遺伝子の翻訳開始点より 86 bp の位置に A がホモに挿入された *OsDREB1G* のノックアウト変異体であった。ゲノム編集体 *KO2-OsDREB1G-27-36* は、*OsDREB1G* 遺伝子の翻訳開始点より 164 bp の位置に A がホモに挿入された *OsDREB1G* のノックアウト変異体であった。これらのノックアウト変異体を窒素源を含まない水耕液で栽培し、*OsRBCS* 遺伝子の発現量を野生型イネと比較した。2 系統のノックアウト変異体の *OsRBCS 2* および *OsRBCS 4* 遺伝子の発現量は、いずれも野生型と比較して増加していた。このことは、低窒素条件下において *OsDREB1G* は *OsRBCS 2* および *OsRBCS 4* 遺伝子の発現を抑制していることを示している。さらに、2 系統のノックアウト変異体は野生型と比較して葉面積が増加しており、生体重も増加していた。一方、0.5 mM NH_4NO_3 を含む水耕液で 2 系統のノックアウト変異体を栽培したところ、野生型と比較して *OsRBCS 2* および *OsRBCS 4* 遺伝子の発現量が減少していた。このことは、窒素源が十分に存在する条件下において *OsDREB1G* は *OsRBCS 2* および *OsRBCS 4* 遺伝子の発現を促進していることを示している。

以上の結果より、窒素レベルが低下すると *OsDREB1G* は *OsRBCS 2* および *OsRBCS 4* 遺伝子に対して発現促進型から発現抑制型へ機能変化すること、*OsDREB1G* 遺伝子をノックアウトしたイネでは低窒素条件下における *OsRBCS* 遺伝子の発現量が増加するとともに葉面積が増加することによりバイオマスが高まることが明らかとなった。