

トランスクリプトーム解析を用いたイネの概日時計制御下にある遺伝子及び発現制御因子の探索

佐藤稜真^{1*D2}・宗岡真美^{1M2}・高木若葉^{1M1}・齋藤和幸²・東江栄²

(1九州大学大学院生物資源環境科学府・2九州大学大学院農学研究院)

**Search for genes and expression-regulating factors under the circadian clock
of the rice (*Oryza sativa* L.) using genome-wide transcriptomics**Ryoma Sato^{1*D2}, Mami Munaoka^{1M2}, Wakaba Takaki^{1M1}, Kazuyuki Saito², Sakae Agaric²

(1 Graduate school of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University,

2 Faculty of Agriculture, Kyushu University)

【背景】世界の主要な穀物であるイネ(*Oryza sativa* L.)において、高い環境ストレス耐性を有する高収量品種の作出は喫緊の課題である。遺伝子の多くは概日時計の制御下にあり、自然環境中の時間変化に対応してその発現量が周期的に変動する。この周期性を概日リズムと呼ぶ。近年の研究で、発現に概日リズムを示す遺伝子(概日遺伝子)が、作物のストレス耐性を高めることが示された。先行研究(Sato *et al.*, 2011)では、マイクロアレイを用いて構築された生育中のイネにおける日周期的な遺伝子発現データベース(RiceXPro)が公開されたが、広く活用されるには至っていない。本研究では、イネにおいて発現量の日変化を示す遺伝子及び新しい発現調節因子として注目されている長鎖非翻訳 RNA(lncRNA)を同定することを目的とし、次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を行った。

【材料及び方法】イネ品種”日本晴”(*Oryza sativa* L. ssp. *japonica* cv. Nipponbare) は、九州大学伊都圃場ビニールハウス内で2021年6月17日から栽培し、2021年9月20日6時及び18時に止葉を採取した。葉身からAGPC法で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の塩基配列(リード)及びRAP-DB(<https://rapdb.dna.affrc.go.jp/download/irgsp1.html>)より入手したゲノム配列を用いてトランスクリプトーム解析を実行した。リード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)、採取時刻間の発現量比較にはDESeq2(v1.36.0)を用いた。転写産物の機能推定にはEnTAP(v0.10.8)、GOエンリッチメント解析にはtopGO(v2.41.0)、転写因子の同定にはPlantTFcat(<https://www.zhaolab.org/PlantTFcat/>)、非翻訳産物である長鎖非翻訳 RNA(lncRNA)の同定にはDeepPlnc等、及びlncRNA-mRNA間の物理的結合予測にはpRIblast(v0.0.2)等を用いた。発現相関解析にはRスクリプトを用いた。

【結果と考察】6:00 から 18:00 にかけて発現量が有意に増加あるいは減少する転写産物を、それぞれ 3546 種類及び 2954 種類同定した。これらの遺伝子群には成長促進(カリキン応答、二次成長、ミトコンドリア、葉緑体、及び RubisCO 活性化等)、植物ホルモン(アブシジン酸応答及びサイトカイニン受容活性等)、及び二次代謝(グルタミン代謝、アントラニル酸合成、4-アミノ-4-デオキシコリスミ酸合成、及びフェニルアラニンアンモニアリアーゼ等)等の、ストレス耐性の向上及び収量の増加に関連すると考えられる機能の割合が特に多かった。また、6500 種類の発現変動転写産物のうち 385 種類は転写因子であり、C2H2, AP2-EREBP, 及び C2C2-CO-like 等が含まれていた。さらに、発現変動した lncRNA を 447 種類同定し、そのうち 421 種類が概日リズム調節に関与するタンパク質をコードする mRNA と共発現し、かつ物理的に結合しうることを明らかにした。