

イネにおけるヒストン脱アセチル化酵素 HDA713 は低窒素条件下で
Rubisco 小サブユニット遺伝子の発現を制御する

余文軒¹*M2・宮本史也¹・東江栄²・齋藤和幸²

(¹九州大学農学部生物資源環境科学府, ²九州大学大学院農学研究科)

**Histone Deacetylase HDA713 regulates Rubisco Small Subunit Genes Expression
under Nitrogen Deficiency in Rice**

Yu Wenxuan¹*M2, Fumiya Miyamoto¹, Sakae Agarie², Kazuyuki Saitou²

(¹Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Science, Kyushu University,

²Faculty of Agriculture, Kyushu University)

【緒言】

窒素は植物にとって重要な栄養素の一つである。植物体に吸収された窒素の多くは光合成関連タンパク質を構成するアミノ酸の合成に利用される。Rubisco は光合成を律速する主要酵素の一つであり、イネ(*Oryza sativa* L.)の核ゲノムには 5 種類の Rubisco 小サブユニットをコードする遺伝子 (*OsRBCS1*, 2, 3, 4, 及び 5)が存在する。本研究では、*OsRBCS3* の発現量が、土壌中の窒素濃度の低下に伴って顕著に減少しており、ヒストンのアセチル化レベルと相関があることを見出した。さらに、イネにおけるヒストン脱アセチル化酵素遺伝子 *HDA713* の発現量が、窒素レベルの低下に伴って増加することを明らかにした。そこで、本研究では、*HDA713* 遺伝子の発現量を増加及び低下させる形質転換体を作成し、低窒素環境下における *HDA713* の発現量及び *OsRBCS3* 特異的なヒストンのアセチル化レベルを調査した。その結果、窒素濃度が低下した条件において、*HDA713* はヒストンのアセチル化レベルを変化させ、*OsRBCS3* の発現量を制御することが示唆された。

【材料および方法】

供試材料として、イネ品種日本晴を用いた。また、*HDA713* 関連形質転換体として、ユビキチンプロモーター及び CaMV35S プロモーターによる過剰発現体、並びにアンチセンス法による発現抑制体を作成した。これらを T₂ 世代まで継代し、導入遺伝子が 2 コピーであるホモ系統を選抜した。植物体は、窒素源を十分に含む黒粒培土を用いて、室温 25°C、湿度 70%、及び自然光条件下で栽培した。また、窒素源を含まない水耕液を用いて、室温 25°C、湿度 70%、光強度 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、及び 12 時間日長に設定したグロースキャビネット内で栽培した。第 3 展開葉を 13 時に採取し、RT-qPCR 法を用いた遺伝子発現解析、及びクロマチン免疫沈降法(ChIP)を用いたヒストンアセチル化レベルの測定に供試した。

【結果および考察】

窒素を含む環境では、野生型、過剰発現体、及び発現抑制体の 3 個体間において、*OsRBCS3* の発現量の有意差が見られなかった。一方で、窒素を含まない環境では、野生型に対する *OsRBCS3* の発現量は、発現抑制体で有意に増加し、過剰発現体で有意に減少した。加えて、その他 3 種類の Rubisco 小サブユニットをコードする遺伝子(*OsRBCS2*, 4 及び 5)も、低窒素条件下で、*OsRBCS3* と同様の結果が得られた。これらの結果から、低窒素条件下において *OsRBCS1* を除く全ての Rubisco 小サブユニットコード遺伝子は、*HDA713* により制御されることが示された。さらに、*HDA713* 過剰発現体において、*OsRBCS3* に特異的なヒストン H3 の 9 番リジン残基のアセチル化レベルは有意に低下した。このことから、ヒストン脱アセチル化酵素 *HDA713* が、*OsRBCS3* におけるヒストン脱アセチル化を介して *OsRBCS3* の発現を制御していることが示唆された。

本研究の結果から、イネにおける *HDA713* は、窒素源を豊富に含む環境では、*OsRBCS3* の発現制御に関与しない一方で、窒素が欠乏した環境では *OsRBCS3* の発現を抑制すると考えられた。