

RNA-Seq を用いたアイスプラントにおける好塩性に関わる遺伝子の網羅的解析佐藤稜真^{1*}M1・小西絢子²・, Dan Q. Tran³・John C. Cushman⁴・九州大学大学院農学研究院研究教育支援センター¹・齋藤和幸¹・東江栄¹(¹九州大学大学院・²香川大学農学部・³愛媛大学大学院・⁴ネバダ大学リノ校)**Transcriptome analysis of halophilism in the common ice plant using RNA-Seq**Ryoma Sato^{1*}M1, Ayako Konishi², Dan Q. Tran³, John C. Cushman⁴,Center of Advanced Instrumental and Educational Supports¹, Kazuyuki Saito¹, Sakae Agarie¹(¹ Graduate school of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University,² Faculty of Agriculture, Kagawa University,³ The United Graduate School of Agricultural Sciences, Ehime University,⁴ Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Nevada, Reno)

【背景】アイスプラント (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) は、作物が生存できない塩存在下で成長が促進するが、その機構は不明である。本研究では、NaCl 処理した本種の懸濁培養細胞を用いて、RNA-Seq 解析による転写産物の網羅的解析を行い、NaCl 処理に伴い発現量の変化する遺伝子の同定を試みた。まず、NaCl 処理した培養細胞で得られた転写産物の塩基配列を用いて、NaCl 処理で発現量が変動した転写産物を推定した。ついで、エンリッチメント解析によって、NaCl 存在下で発現が変動した遺伝子の機能を推定した。さらに、発現量の増減から、NaCl によって活性化されている関連生合成経路を推定した。これらの網羅的解析から、NaCl による細胞成長の促進機構の理解を試みた。

【材料および方法】懸濁培養したアイスプラント胚軸由来培養細胞に NaCl を 100mM になるように与え、24 時間後に細胞を回収して SDS-LiCl 法で RNA を抽出した。リードカウントには illumina 社の NovaSeq を用いた。解析には、以下のソフトウェアを利用した。データのクオリティチェックには fastqc, ダウンサンプリングには seqkit, アセンブリには Trinity, マッピングには Bowtie2, 発現量推定には RSEM, サンプル間での発現量比較には edgeR, アノテーション並びに KEGG データを引用した代謝経路の解析には BLAST2GO, 及びエンリッチメント解析には Metascape を用いた。

【結果と考察】0mM 及び 100mM NaCl で 24 時間処理した細胞間で多重比較を行った結果、約 4000 個の遺伝子の発現が変動することが明らかになった。NaCl 処理によって、タンパク質の合成・分解に関わる酵素, ABA 応答関連酵素, 及び RNA スプライシング等に関わる酵素遺伝子の発現量が増加した。一方、細胞壁の可塑性に関わる酵素や、上述したものとは別のタンパク質の合成・分解に関連する酵素の遺伝子の発現量が低下した。また、エンリッチメント解析の結果から、発現量の変化した遺伝子機能は約 140 個であり、これらには、細胞質において ATP を利用する反応及び糖代謝に関わる反応が含まれていた。以上の結果から、アイスプラントの培養細胞の NaCl による成長促進には複数の代謝反応が関与しており、特にエネルギー代謝が大きく関わっていることが示唆された。