

イネ科作物のショ糖輸送および糖・デンプン代謝に関する分子生理学的研究

廣瀬竜郎¹⁾・青木直大²⁾

(¹⁾ 農研機構中央農業研究センター, (²⁾ 東京大学大学院農学生命科学研究科)

同化産物の転流と蓄積は、その生産とともに作物の成長や収量に関わる重要な生理過程である。ショ糖はすべての高等植物に共通した光合成産物の輸送形態であり、ショ糖の輸送機構はソース器官からシンク器官に至る光合成産物転流の本質とあってよい。一方、光合成産物の貯蔵形態として最も一般的なものはデンプンである。したがって、植物のソース・シンク間の生理的相互作用を理解する鍵は、ショ糖輸送とショ糖をはじめとする可溶性糖類とデンプンとの相互変換を包括的に理解することにある。

廣瀬竜郎・青木直大の両氏は、主にイネ科作物を対象としてショ糖輸送および糖・デンプンの合成・分解代謝に関する分子機構について、約20年間にわたって精力的な研究を展開し、ソース・シンク間の制御機構を初めて詳細に示す先駆的かつ統合的な成果をあげた。また、研究手法は個々の遺伝子(アイソジーン)の網羅的な動態比較や、独自に選抜した変異体からの遺伝子単離など、新規性に富んでいる。研究業績の内容は以下のように要約できる。

1. イネ科作物のショ糖トランスポーター遺伝子群の単離と機能解析

植物細胞内外のショ糖輸送を行うタンパク質(ショ糖トランスポーター:SUT)の存在は古くから知られていたが、その分子の実態が明らかになったのは1992年にドイツのグループがハウレンソウのSUT遺伝子を初めて単離してからである。その後、バレイショやタバコをはじめ多くの双子葉植物で同様のSUT遺伝子が単離された。一方、単子葉植物におけるSUTの研究は大きく遅れていたが、両氏が貢献する形で1997年に単子葉植物初のSUTがイネから、1999年にトウモロコシから単離された(参考業績1, 2)。これを嚆矢に、青木氏は、コムギのSUT遺伝子を単離し(業績3)、さらに、これらの遺伝子単離にとどまらず、当時急速に進化したゲノム解読の成果を活用して、イネのゲノム中に存在するSUT遺伝子群(遺伝子ファミリー)のアイソジーンを探索してその発現を実験により確かめることで、5個の全SUTアイソジーンを確定した(業績6)。両氏はこうした遺伝子単離とともに、個々の遺伝子機能を解析した。特にイネの*OsSUT1*遺伝子について詳細な解析を行い、プロモーター/レポーター解析や免疫染色法、および*in situ*ハイブリダイゼーションなどによって本遺伝子が発芽種子の胚盤から成熟葉まで様々な組織の維管束節部で発現することを示し(業績1, 2, 4, 13, 14)、遺伝子抑制法によって本遺伝子の主な役割が双子葉植物のSUTで知られていたような篩管へのショ糖の取り込みではなく、穎果の登熟や種子発芽にあることを(業績5)、そして、遺伝子破壊システムを用いた解析によって本遺伝子が花粉発芽に必須であることを明らかにした(業績16)。加えて、*OsSUT1*とその相同分子種(オルソログ)であるコムギの*TaSUT1*を詳細に比較し、両者の発現パターンは、維管束節部や登熟中の穎果においてはほぼ同様であるが、発芽種子においては明確な違いがあり、胚乳から胚盤に至る糖輸送のメカニズムはイネとコムギで異なることを明らかにした(業績7, 11)。さらに両氏は、成熟葉の節部における蛍光色素の移動パターンを比較し、イネではシンプラスト経由のローディング経路が存在するのに対して、コムギではアポプラスト経由のみであることを示した(業績14)。

このように両氏は、イネ、コムギ、トウモロコシのSUT遺伝子群の同定と発現・機能解析を通じて、ソースおよびシンク器官におけるショ糖輸送経路の種特異的な特徴を明らかにした。これらの成果は、光合成産物の転流効率を向上させるためのターゲットが作物種によって異なることを示すものであり、今後のイネ科作物の生産性向上のための重要な知見となっている。

2. イネ科作物の糖・デンプン代謝関連遺伝子群の単離と機能解析

光合成産物の転流がショ糖のかたちで行われることから、ショ糖の合成と分解も転流の律速因子となりうる。両氏はここでも主要酵素の遺伝子ファミリーを網羅的に解析する手法を駆使して解析を進めた。青木氏はショ糖合成系の鍵酵素であるショ糖リン酸合成酵素(APS)についてイネ、トウモロコシ、コムギで全アイソジーンを確定し、さらにそれらの分子進化的特徴を明らかにした(業績8)。一方、廣瀬氏はショ糖分解系の鍵酵素の一つであるスクロースシンターゼ(SUS)に注目し、イネの6個のSUSアイソジーンを明らかにするとともに詳細な発現解析を通じて各アイソジーンの役割を明らかにした(業績15)。加えて、両氏はそれら遺伝子の機能解析にも取り組み、特にイネのAPS遺伝子のひとつである*OsAPS1*が、概日性リズムを含む複雑な発現制御を受けていることをレポーター遺伝子を用いた解析などによって発見し(業績17, 20)、そして本遺伝子は緑葉でのショ糖とデンプンの間の炭素分配に大きく関与することを遺伝子抑制法を用いた解析によって(業績18)、さらに花粉の発芽に必須の役割をもつことを遺伝子破壊システムを用いた解析によって明らかにした(業績21)。また、廣瀬氏はショ糖分解系酵素の一つである細胞壁型インベルターゼ(CIN)遺伝子を単離して、イネ穎果の登熟過程における発現パターンを詳細に解析し、CIN活性は受精後3日目頃までは高く、そしてCIN遺伝子が主として果皮で発現していることから、転流されたショ糖がCINによって単糖に分解されてから胚や胚乳に供給されること、そしてそれ以降はCIN活性が低下するとともに、特に糊粉層でのSUT遺伝子の発現レベルが高まることから、ショ糖がそのまま胚乳組織に取り込まれる可能性が高いことを明らかにした(業績4)。さらに両氏は、光合成産物の貯蔵形態であるデンプン代謝についても研究を進め、ADPグルコースピロホスホラーゼ、デンプン合成酵素、ブランディングエンザイムなどのデンプン合成系酵素遺伝子群の網羅的な発現解析を行って、葉鞘をはじめとする栄養器官と胚乳とでは、それぞれ酵素の遺伝子ファミリーの異なるアイソジーンが働いていることなどを世界にさきがけて明らかにした(業績9, 10, 12)。この成果は葉鞘や稈などの栄養器官と胚乳におけるデンプンの量や質を独立して改変することが可能であることを示唆しており、イネ科作物の生産性向上に向けた今後の育種戦略を示す知見である。

このような遺伝子からのアプローチに加えて、両氏は表現型にもとづいて新規変異体を単離する手法により新たな転流・糖代謝制御因子を解明した。このうち、葉身にデンプンを過剰に蓄積するイネLSE1変異体は、その原因遺伝子がデンプン分解に関わるGlucan Water Dikinase 1(GWD1)遺伝子であることを明らかにした(業績19)。GWD1はシロイヌナズナのSEX1変異体(LSE変異体の1つ)の原因遺伝子で、このSEX1変異体は生育が著しく阻害されることが報告されていたが、イネではGWD1遺伝子の機能欠損は栄養成長には影響を及ぼさないことを明らかにした(業績19)。この成果は、イネとシロイヌナズナではGWD1の葉デンプン代謝における役割は同じであるが、葉におけるデンプン蓄積の生育における重要性は両種で大きく異なることを示しており、ソース葉における光合成産物の分配と生育との関係を考える上で重要な知見である。

ポストゲノム時代といわれる今日、様々な遺伝子がつもつ機能を解明し、それらと種々の農業形質との関連を明らかにする研究がきわめて重要であることは論を待たない。海外では作物の重要な生理機能である糖輸送や糖・デンプン代謝の分子生理学的研究が盛んになりつつある。両氏はわが国の重要な作物であるイネに着目し、ショ糖輸送、糖・デンプン代謝に関する遺伝子群を他のイネ科作物と比較しつつ網羅的に解析して作物学的特徴を明らかにした。研究は先駆的であり、作物学研究に新たな展開をもたらした。国内外の研究グループからも数多く引用されている。シンク・ソース関係は作物生産向上において最も重要な生理過程のひとつでありながら、その複雑性から制御が困難であった。両氏の研究はイネと他の作物におけるシンク・ソース関係の重要な制御機構を比較、解明したものであり、研究成果は、作物種間の多様性を示すとともに今後のイネと各作物の生産産性向上戦略の確立に貢献するところ大と考える。よって、作物学会賞を授与するに十分値する研究業績と評価される。

研究業績

1. Matsukura, C., Saitoh, T., Hirose, T., Ohsugi, R., Perata, P. and Yamaguchi, J. 2000. Sugar uptake and transport in rice embryo. Expression of companion cell-specific sucrose transporter (*OsSUT1*) induced by sugar and light. *Plant Physiol.* 124: 85-93.
2. Furbank, R.T., Scofield, G.N., Hirose, T., Wang, X.D., Patrick, J.W. and Offler, C.E. 2001. Cellular localisation and function of a sucrose transporter *OsSUT1* developing rice grains. *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 1187-1196.
3. Aoki, N., Whitfield, P., Hoeren, F., Scofield, G., Newell, K., Patrick, J., Offler, C., Clarke, B., Rahman, S. and Furbank R.T. 2002. Three sucrose transporter genes are expressed in the developing grain of hexaploid wheat. *Plant Mol. Biol.* 50: 453-462.
4. Hirose, T., Takano, M. and Terao, T. 2002. Cell wall invertase in developing rice caryopsis: Molecular cloning of *OsCINI* and analysis of its expression in relation to its role in grain filling. *Plant Cell Physiol.* 43: 452-459.
5. Scofield, G.N., Hirose, T., Gaudron, J.A., Upadhyaya, N.M., Ohsugi, R. and Furbank, R.T. 2002. Antisense suppression of the rice sucrose transporter gene, *OsSUT1*, leads to impaired grain filling and germination but does not affect photosynthesis. *Funct. Plant Biol.* 29: 815-826.
6. Aoki, N., Hirose, T., Scofield, G.N., Whitfield, P.R. and Furbank, R.T. 2003. The sucrose transporter gene family in rice. *Plant Cell Physiol.* 44: 223-232.
7. Aoki, N., Scofield, G.N., Wang, X.D., Patrick, J.W., Offler, C.E. and Furbank, R.T. 2004. Expression and localisation analysis of the wheat sucrose transporter *TaSUT1* in vegetative tissues. *Planta* 219: 176-184.
8. Castleden, C.K., Aoki, N., Gillespie, V.J., MacRae, E.A., Quick, W.P., Buchner, P., Foyer, C.H., Furbank R.T. and Lunn, J.E. 2004. Evolution and function of the sucrose-phosphate synthase gene families in wheat and other grasses. *Plant Physiol.* 135: 1753-1764.
9. Hirose, T. and Terao, T. 2004. A comprehensive expression analysis of the starch synthase gene family in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta* 220: 9-16.
10. Ohdan, T., Francisco, P.B., Sawada, T., Hirose, T., Terao, T., Satoh, H. and Nakamura, Y. 2005. Expression profiling of genes involved in starch synthesis in sink and source organs of rice. *J. Exp. Bot.* 56: 3229-3244.
11. Aoki, N., Scofield, G.N., Wang, X.D., Offler, C.E., Patrick, J.W. and Furbank, R.T. 2006. Pathway of sugar transport in germinating wheat seeds. *Plant Physiol.* 141: 1255-1263.
12. Hirose, T., Ohdan, T., Nakamura, Y. and Terao, T. 2006. Expression profiling of genes related to starch synthesis in rice leaf sheaths during the heading period. *Physiol. Plant.* 128: 425-435.
13. Scofield, G.N., Aoki, N., Hirose, T., Takano, M., Jenkins, C.L.D. and Furbank, R.T. 2007. The role of the sucrose transporter, *OsSUT1*, in germination and early seedling growth and development of rice plants. *J. Exp. Bot.* 58: 483-495.
14. Scofield, G.N., Hirose, T., Aoki, N. and Furbank, R.T. 2007. Involvement of the sucrose transporter, *OsSUT1*, in the long-distance pathway for assimilate transport in rice. *J. Exp. Bot.* 58: 3155-3169.
15. Hirose, T., Scofield, G.N. and Terao, T. 2008. An expression analysis profile for the entire sucrose synthase gene family in rice. *Plant Sci.* 174: 534-543.
16. Hirose, T., Zhang, Z., Miyao, A., Hirochika, H., Ohsugi, R. and Terao, T. 2010. Disruption of a gene for rice sucrose transporter, *OsSUT1*, impairs pollen function but pollen maturation is unaffected. *J. Exp. Bot.* 61: 3639-3646.
17. Okamura, M., Aoki, N., Hirose, T., Yonekura, M., Ohto, C. and Ohsugi, R. 2011. Tissue specificity and diurnal change in gene expression of the sucrose phosphate synthase gene family in rice. *Plant Sci.* 181: 159-166.
18. Hirose, T., Mizutani, R., Mitsui, T. and Terao, T. 2012. A chemically inducible gene expression system and its application to inducible gene suppression in rice. *Plant Prod. Sci.* 15: 73-78.
19. Hirose, T., Aoki, N., Harada, Y., Okamura, M., Hashida, Y., Ohsugi, R. and Terao, T. 2013. Disruption of a rice gene for alpha-glucan water dikinase, *OsGWD1*, leads to hyperaccumulation of starch in leaves but exhibits limited effects on growth. *Front. Plant Sci.* 4: 147.
20. Yonekura, M., Aoki, N., Hirose, T., Onai, K., Ishiura, M., Okamura, M., Ohsugi, R. and Ohto, C. 2013. The promoter activities of sucrose phosphate synthase genes in rice, *OsSPSI* and *OsSPSII*, are controlled by light and circadian clock, but not by sucrose. *Front. Plant Sci.* 4: 31.
21. Hirose, T., Hashida, Y., Aoki, N., Okamura, M., Yonekura, M., Ohto, C., Terao, T. Ohsugi, R. 2014. Analysis of gene-disruption mutants of a sucrose phosphate synthase gene in rice, *OsSPSI*, shows the importance of sucrose synthesis in pollen germination. *Plant Sci.* 225: 102-106.

参考業績

1. Hirose, T., Imaizumi, N., Scofield, G.N., Furbank, R.T. and Ohsugi, R. 1997. cDNA cloning and tissue specific expression of a gene for sucrose transporter from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol.* 38: 1389-1396.
2. Aoki, N., Hirose, T., Takahashi, S., Ono, K., Ishimaru, K. and Ohsugi, R. 1999. Molecular cloning and expression analysis of a gene for a sucrose transporter maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Physiol.* 40: 1072-1078.