植物の環境ストレス応答機構の保存性と多様性

坂田　洋一・太治　輝昭

（東京農業大・バイオサイエンス学科）

作物の環境ストレス耐性の重要性

- 人口増加
  2000年（60億人）→2050年（90億人）

- 農耕地の減少
  毎年、四国と九州を合わせた面積が砂漠化

- 緑の革命以後、作物の生産量は横ばい

- 作物の収率は最高収量の約２割。その原因のほとんどは、環境ストレス（乾燥、塩害、高温、低温）

植物の非生物的ストレス耐性の理解に向けて

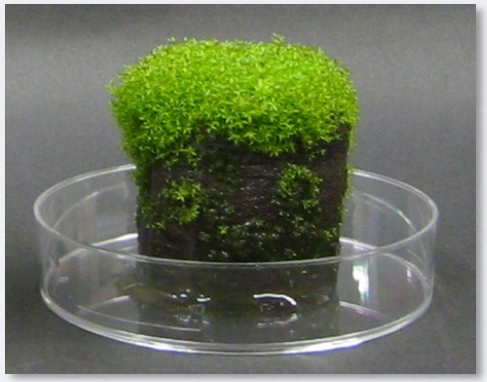
シロイヌナズナ
(*Arabidopsis thaliana*)

ハロフィラ
(*Thellungiella halophila*)

ヒメツリガネゴケ
(*Physcomitrella patens*)

- Comparative analysis
- Natural variation
- Functional Genomics

ABAを介した乾燥ストレス応答機構の保存性



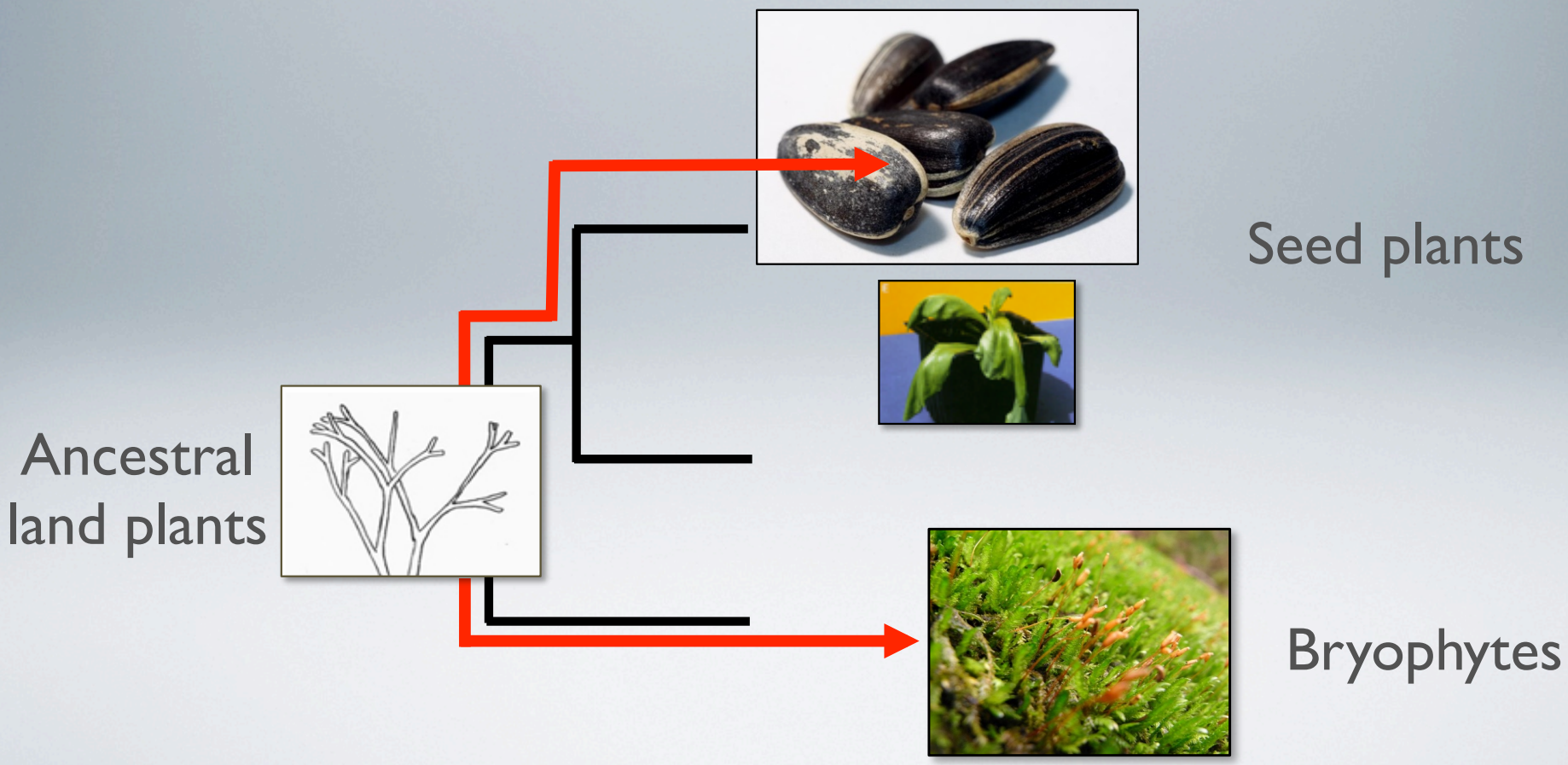
ヒメツリガネゴケ
(*Physcomitrella patens*)

植物の乾燥耐性

DESICCATION TOLERANCE (DT)

		Vegetative tissue	Reproductive organ
種子植物		×	○
シダ植物		×	○
コケ植物		○	○

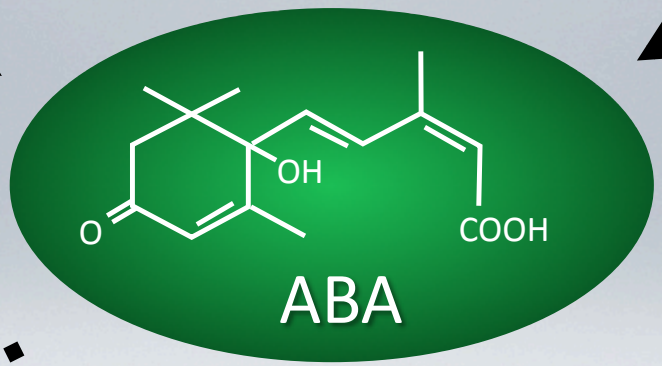
EVOLUTION OF DT



ABSCISIC ACID (ABA)

発達制御

環境ストレス



発達過程の制御

- 種子の成熟・発芽
- 植物体の成長

環境ストレス応答の制御

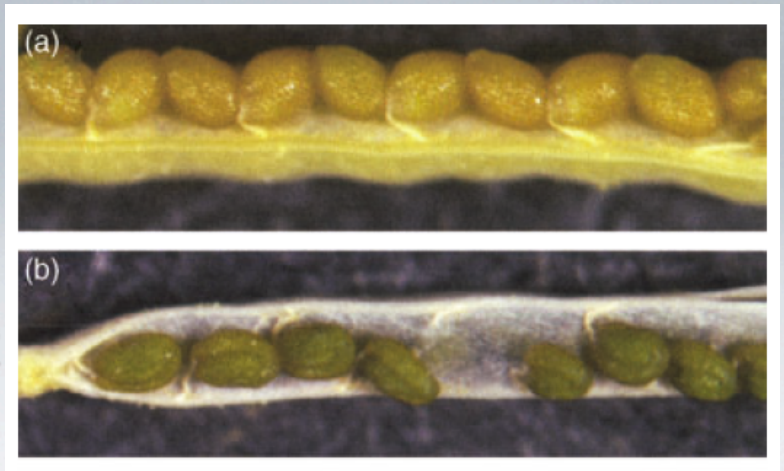
- 気孔閉鎖
- 水分ストレス耐性付与

ABAは種子の乾燥耐性に必須である

ABAシグナル伝達因子の欠損

野生株

ABA
非感受変異体
(*abi3-6*)

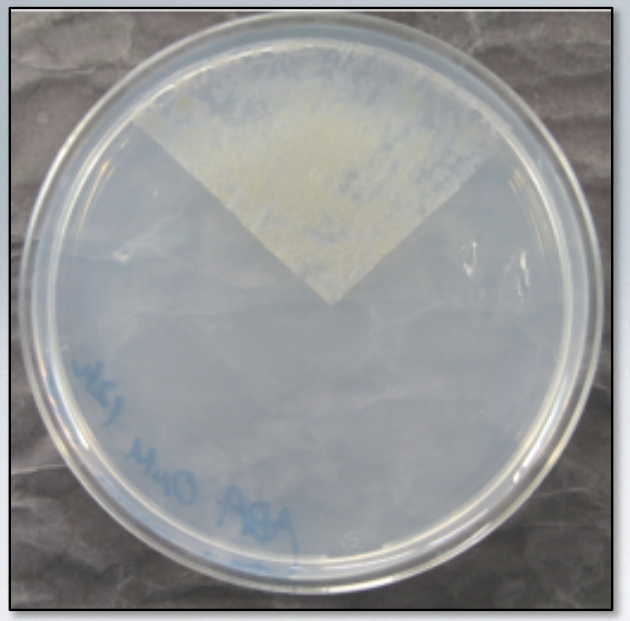


(Marella et al. *Plant J.* 2006)

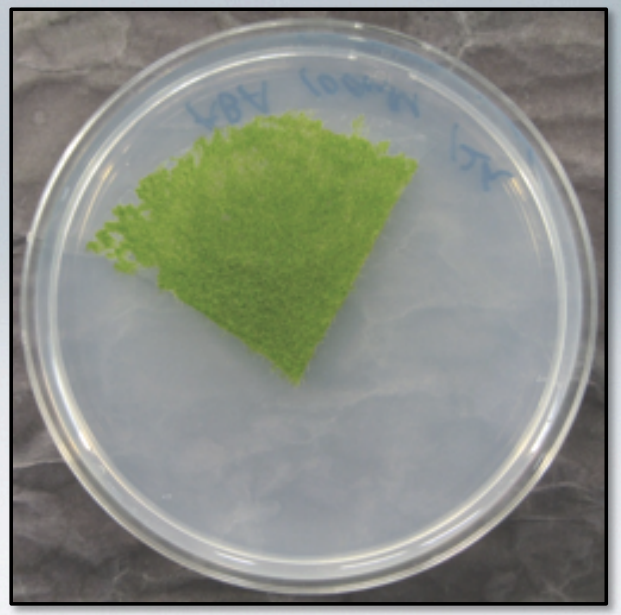
種子が成熟できない

ABAはコケ植物の乾燥耐性を向上させる

-ABA

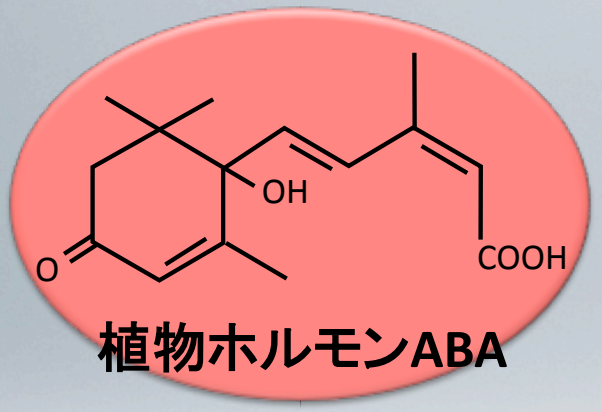


+ABA



24時間クリーンベンチ内で乾燥後、回復培養した

ABI3は種子の乾燥耐性に必須の転写因子である

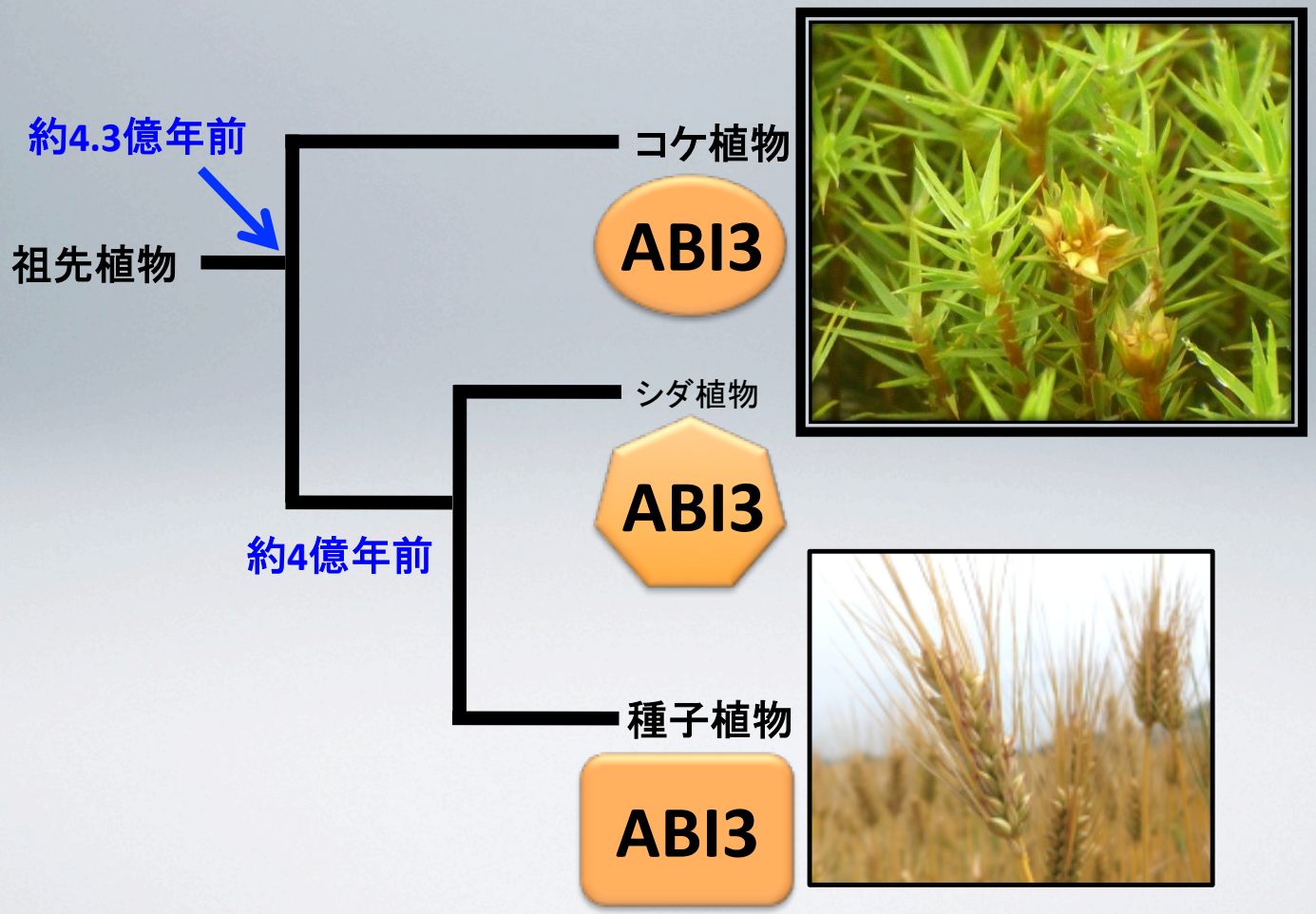


ABI3

乾燥耐性の獲得

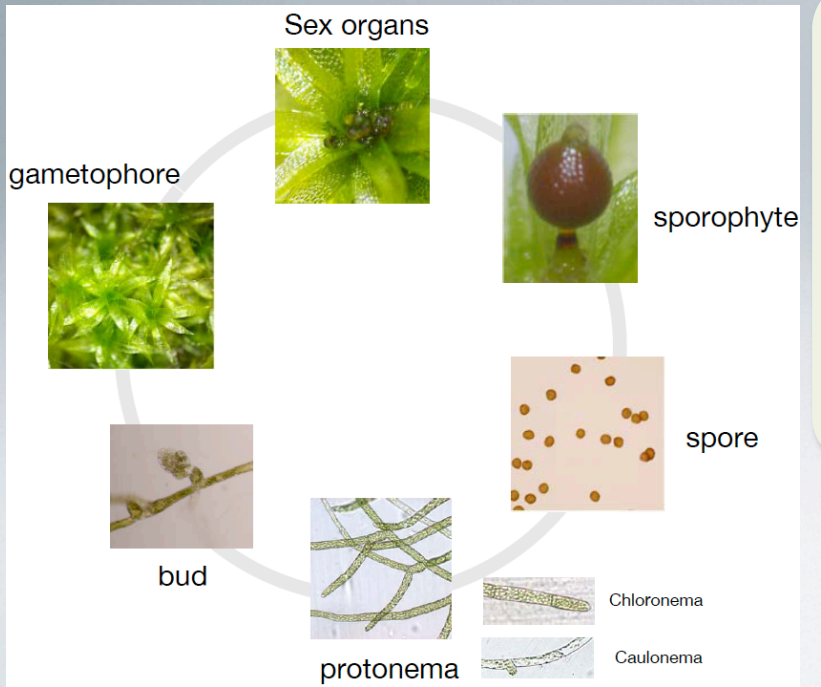
休眠性の獲得

ABI3は陸上植物に広く保存されている



モデルコケ植物

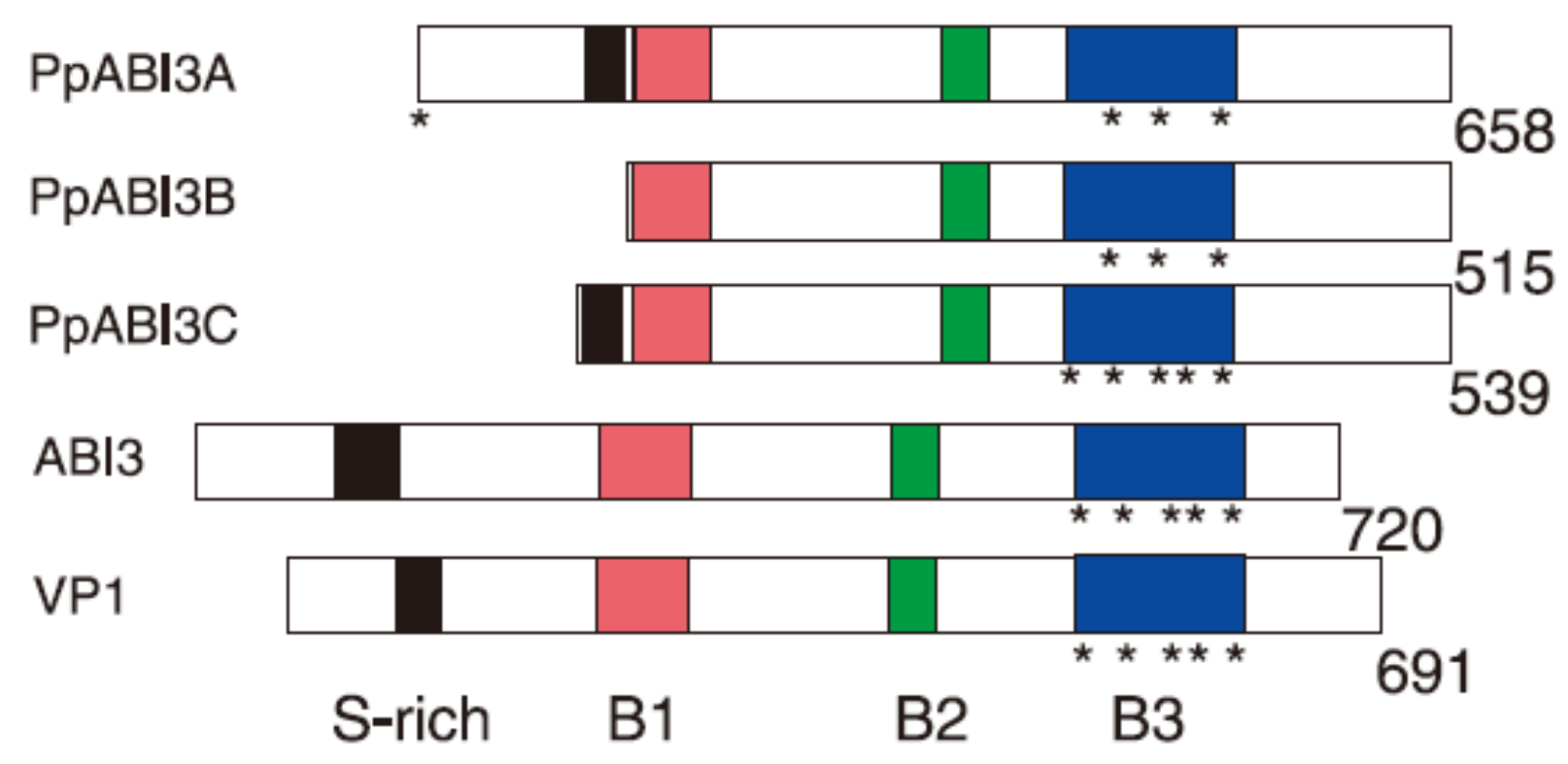
ヒメツリガネゴケ
(*Physcomitrella patens*)



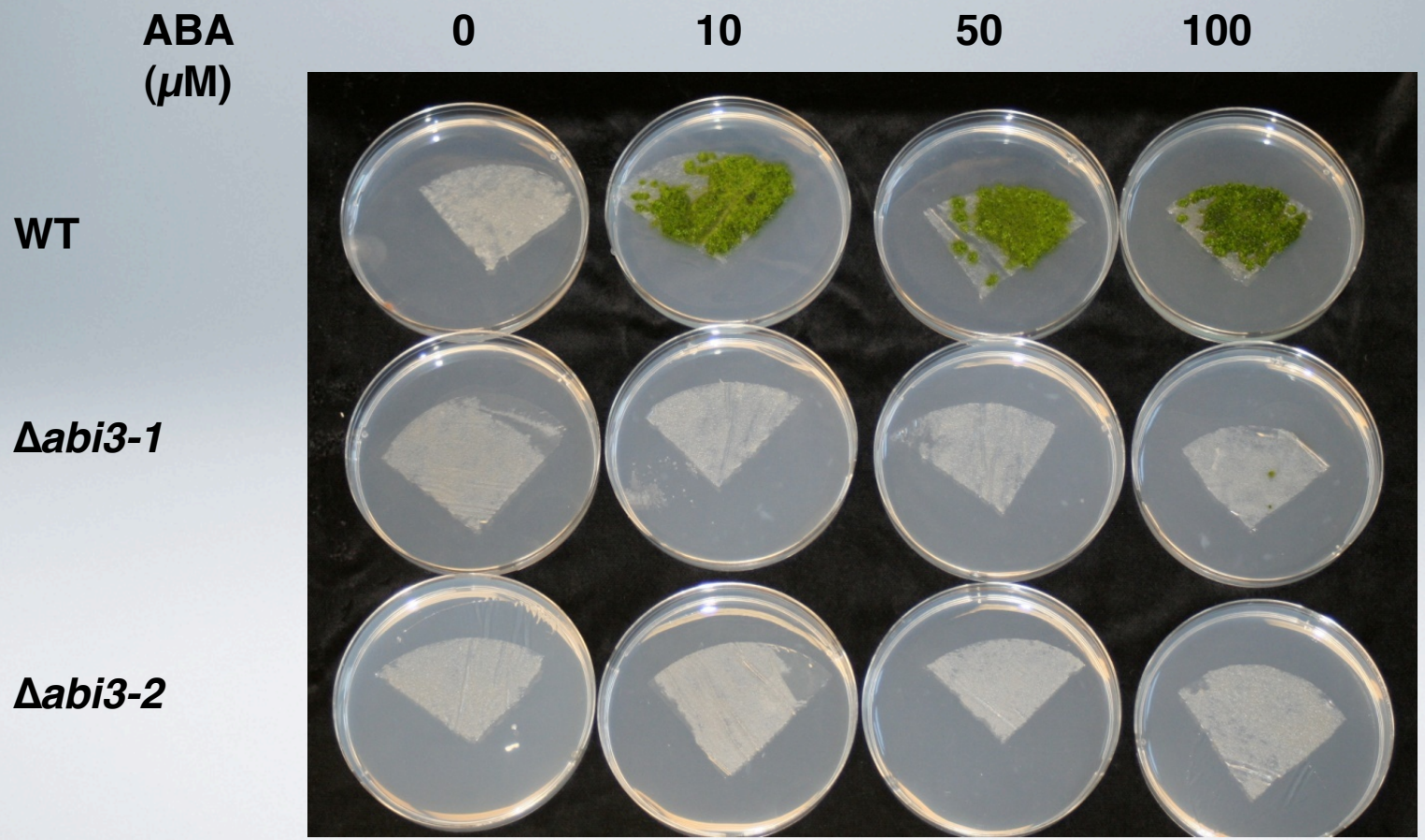
- 形質転換法が確立されている
- 遺伝子ターゲティングが可能
- ゲノム情報が公開されている

(Rensing et al. *Science* 2008)

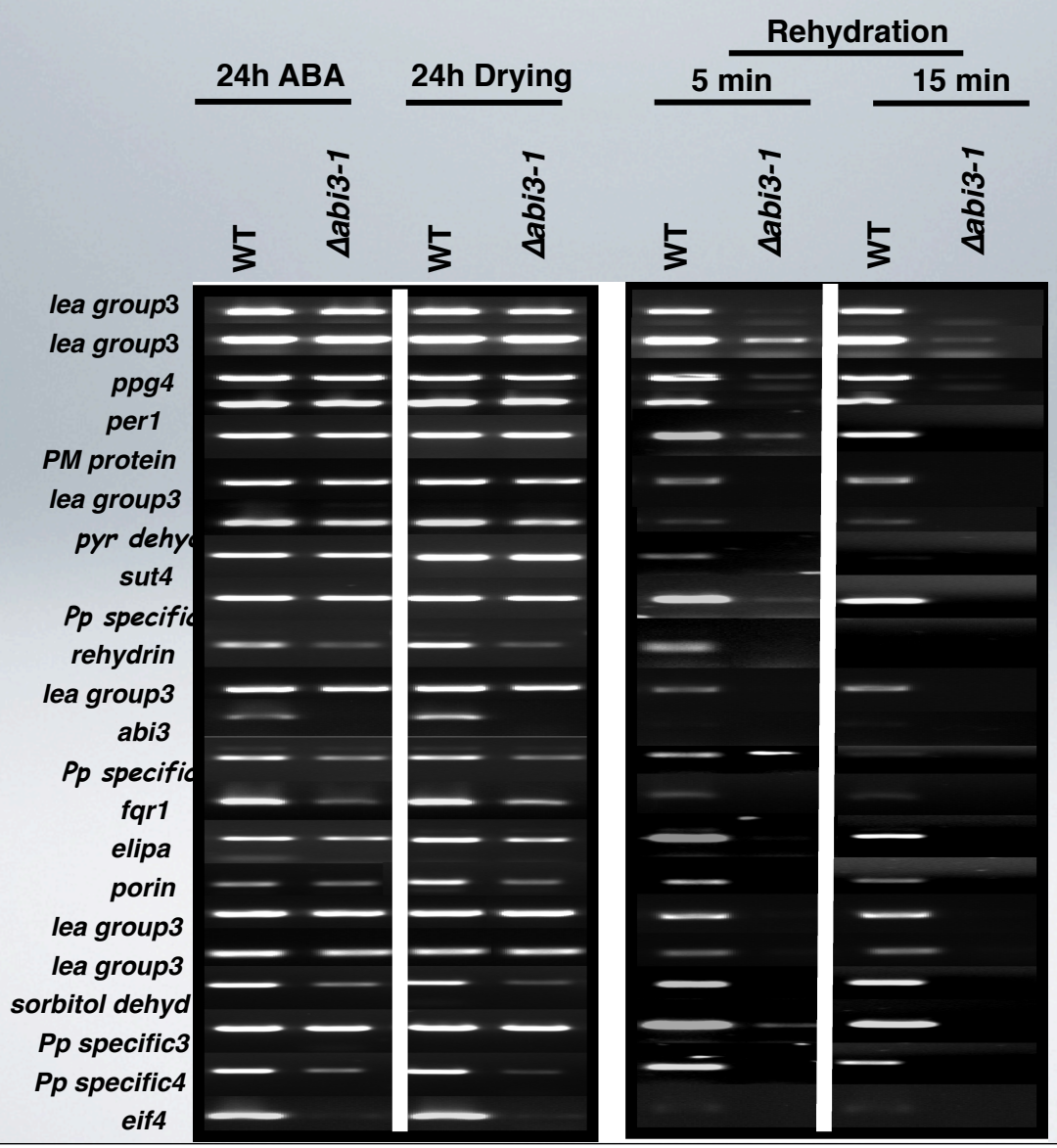
ヒメツリガネゴケは３種の ABI3遺伝子をもつ



ABI3はABA誘導性の乾燥耐性に必須である



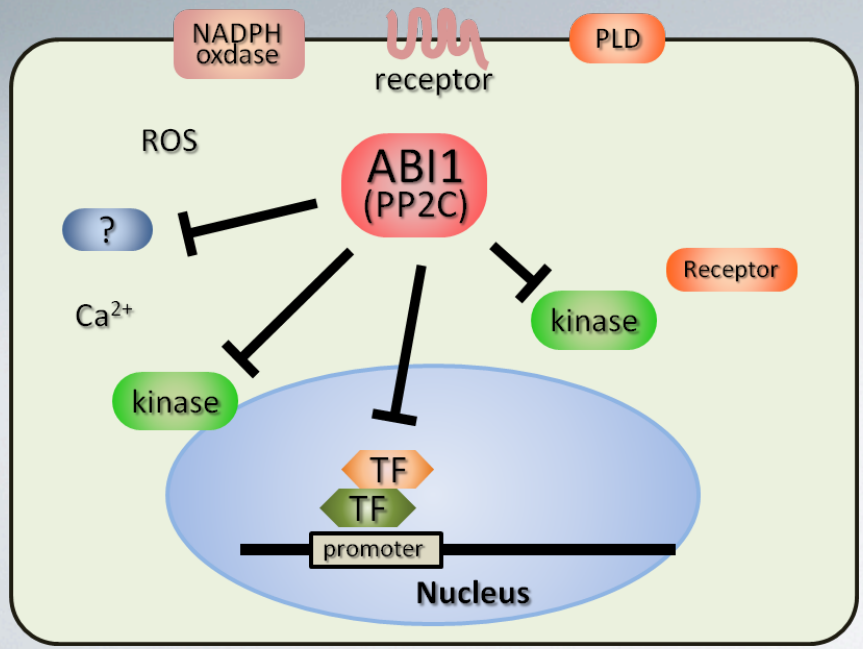
ABI3は再吸水時の転写産物の維持に必須である



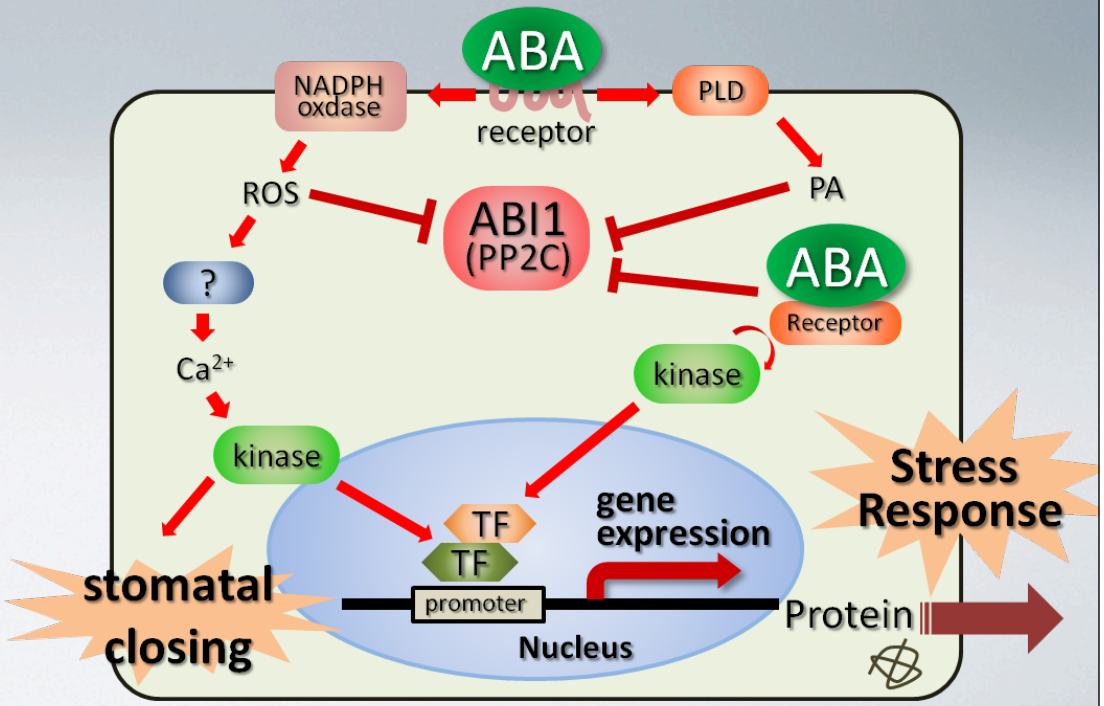
ABI1 (Abscisic acid insensitive 1)

・2C型Ser/Thr プロテインフォスファターゼ（PP2C）をコード
・ABAシグナル伝達系のブレーキ役として機能する
・ ABAシグナル伝達系の最上流で機能する重要な因子

通常時



乾燥ストレス下

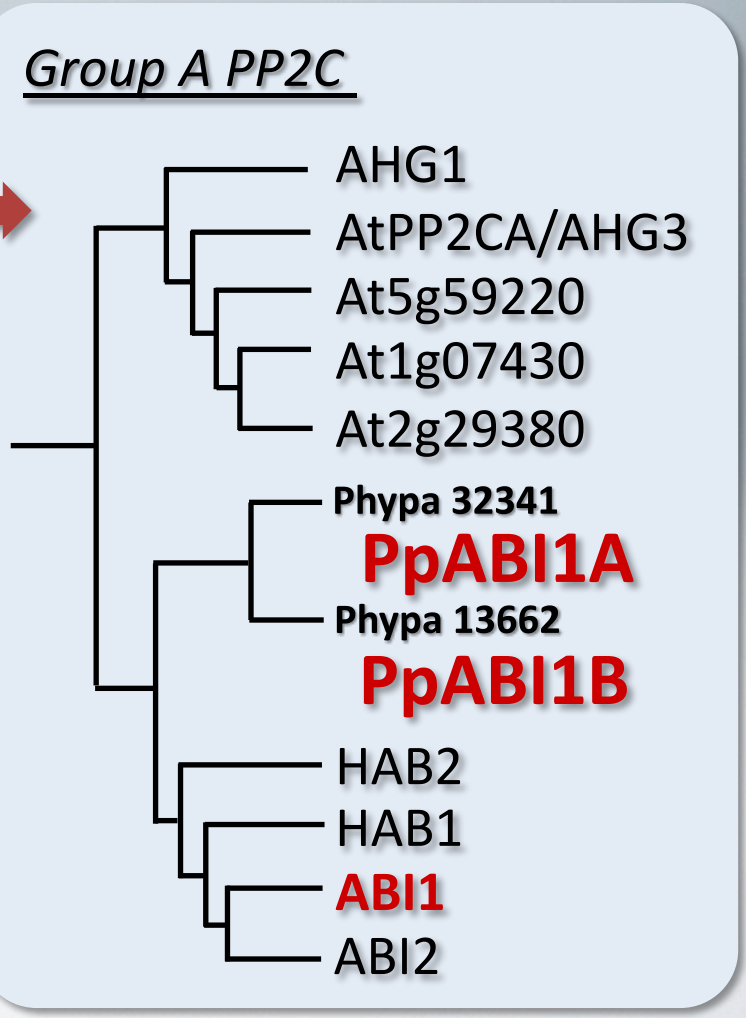


ヒメツリガネゴケは２つのGroupA PP2Cをもつ

PP2Cのグルーピング

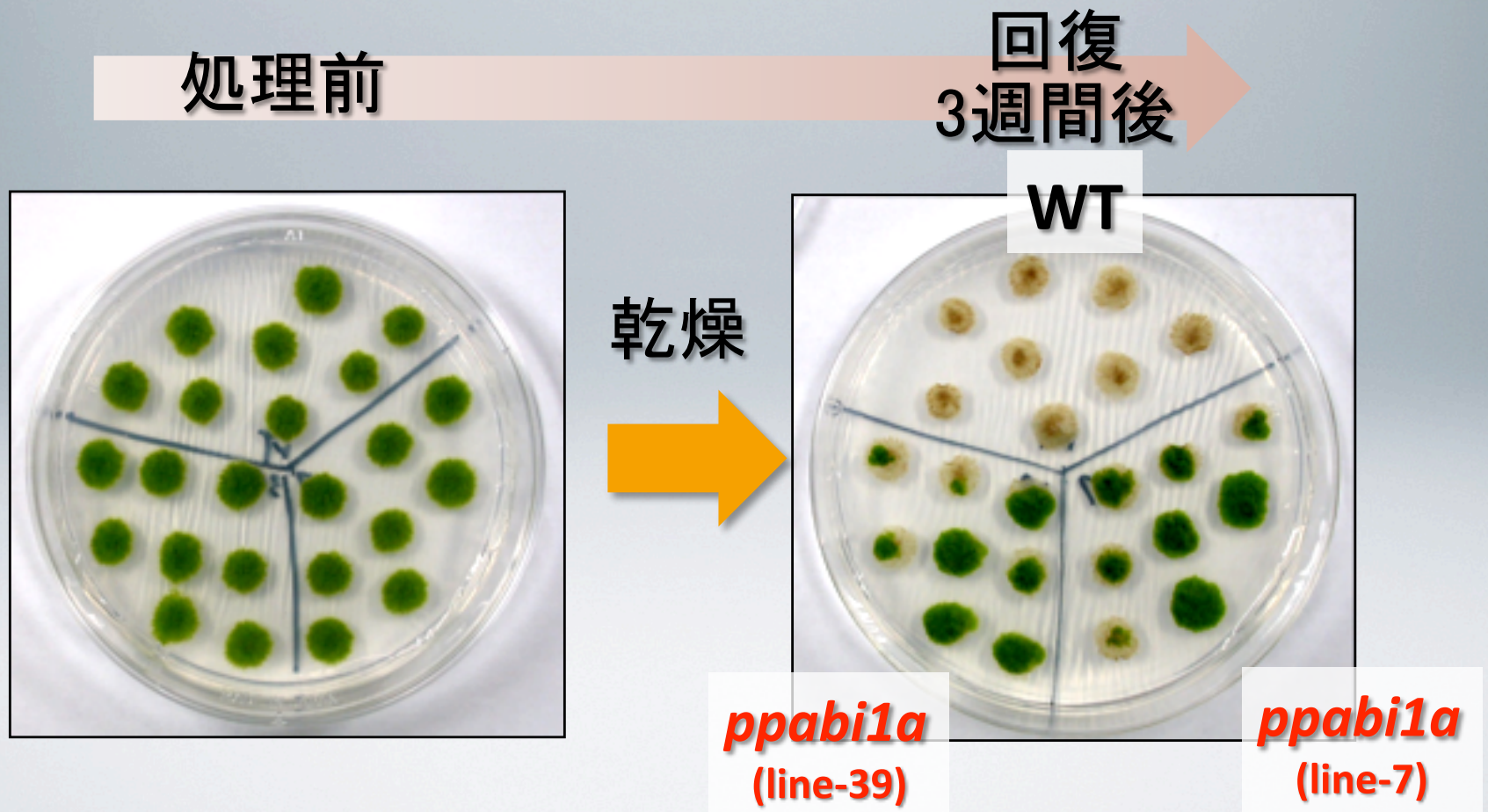
group	no. of genes
A	2
B	-
C	4
D	5
E	7
F	8
G	5
H	7
I	3
J	-
other	10
total	51

8グループでシロイヌナズナPP2Cのオーソログ遺伝子が存在



0.1 substitutions/site

GROUPA PP2Cはヒメツリガネゴケの乾燥耐性に必須である



LEA タンパク質の特徴 (Late Embryogenesis Abundant)

未熟種子

LEA Protein
の蓄積

完熟種子

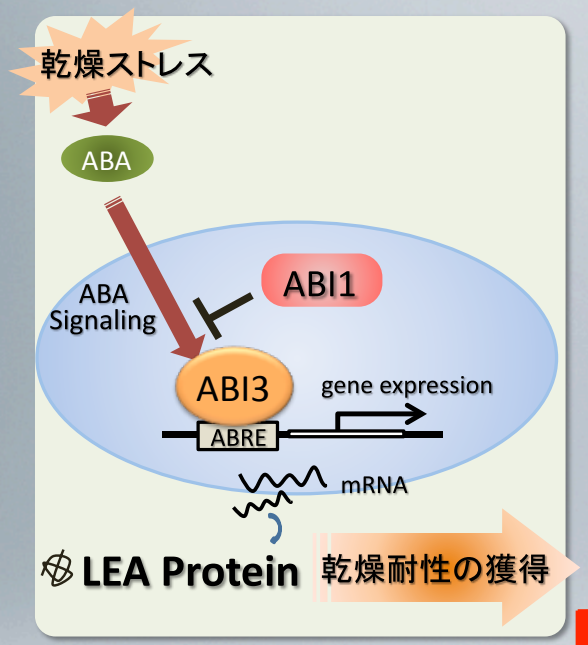
・未熟種子が乾燥耐性を獲得する過程で蓄積する

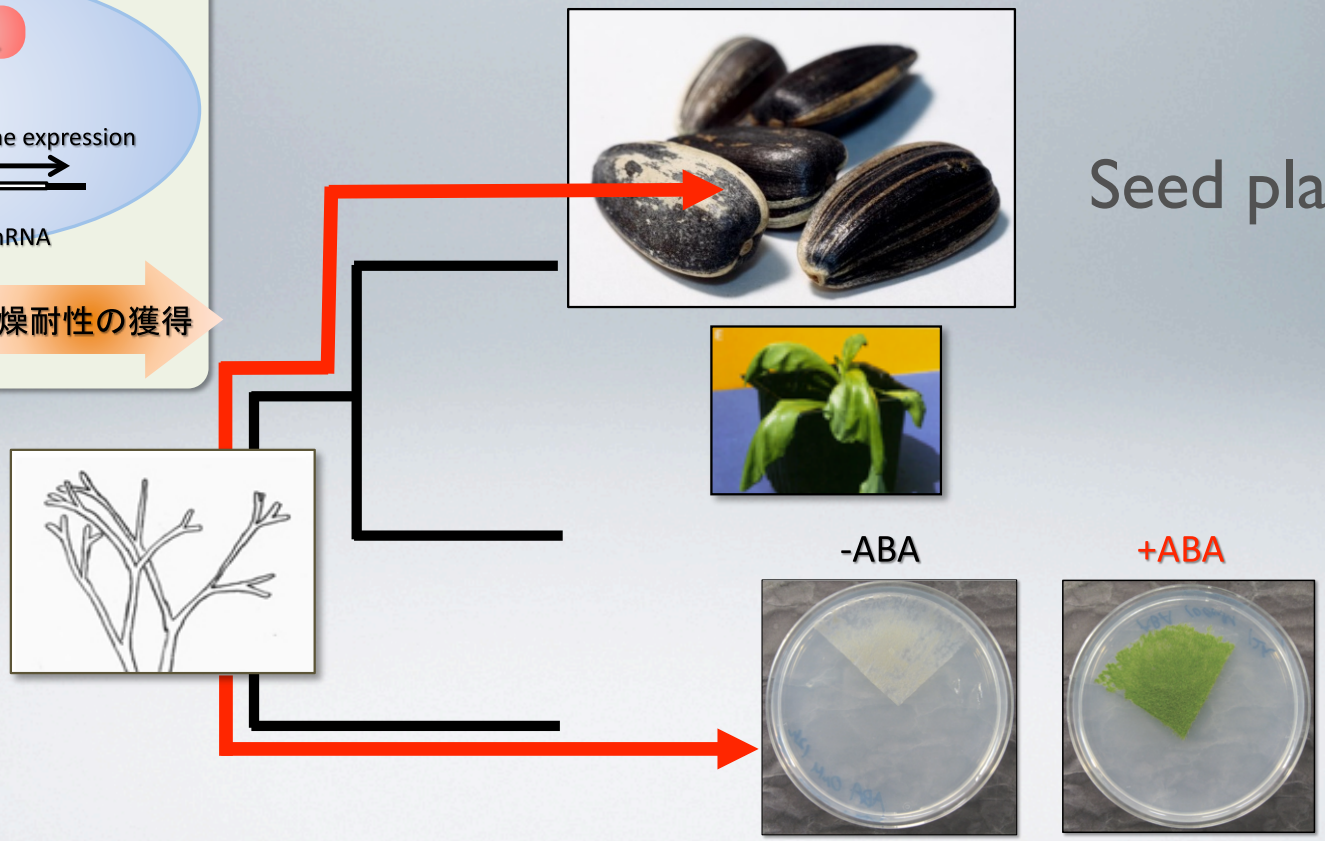
・高い親水性を持ち、タンパク質や生体膜の変性から保護する

種子の強い乾燥耐性の獲得に関与

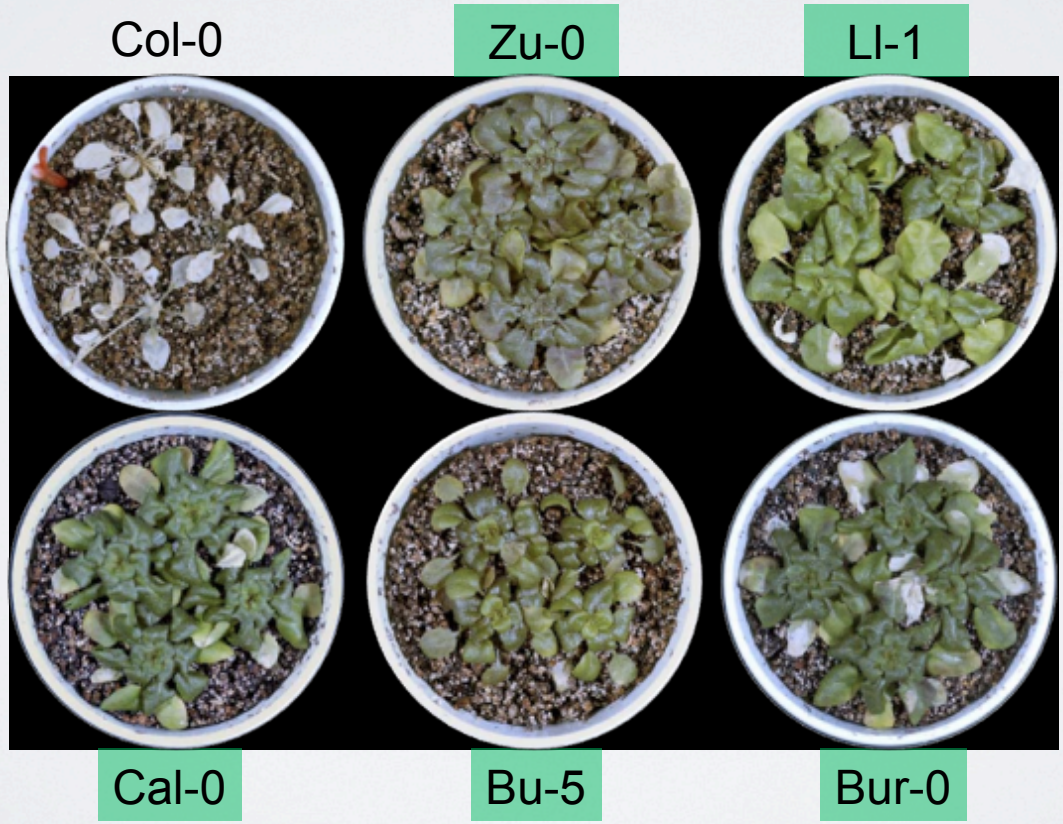
ヒメツリガネゴケ*ABI1* の遺伝子破壊株では
LEAタンパク質の蓄積により乾燥耐性能が向上

EVOLUTION OF DT





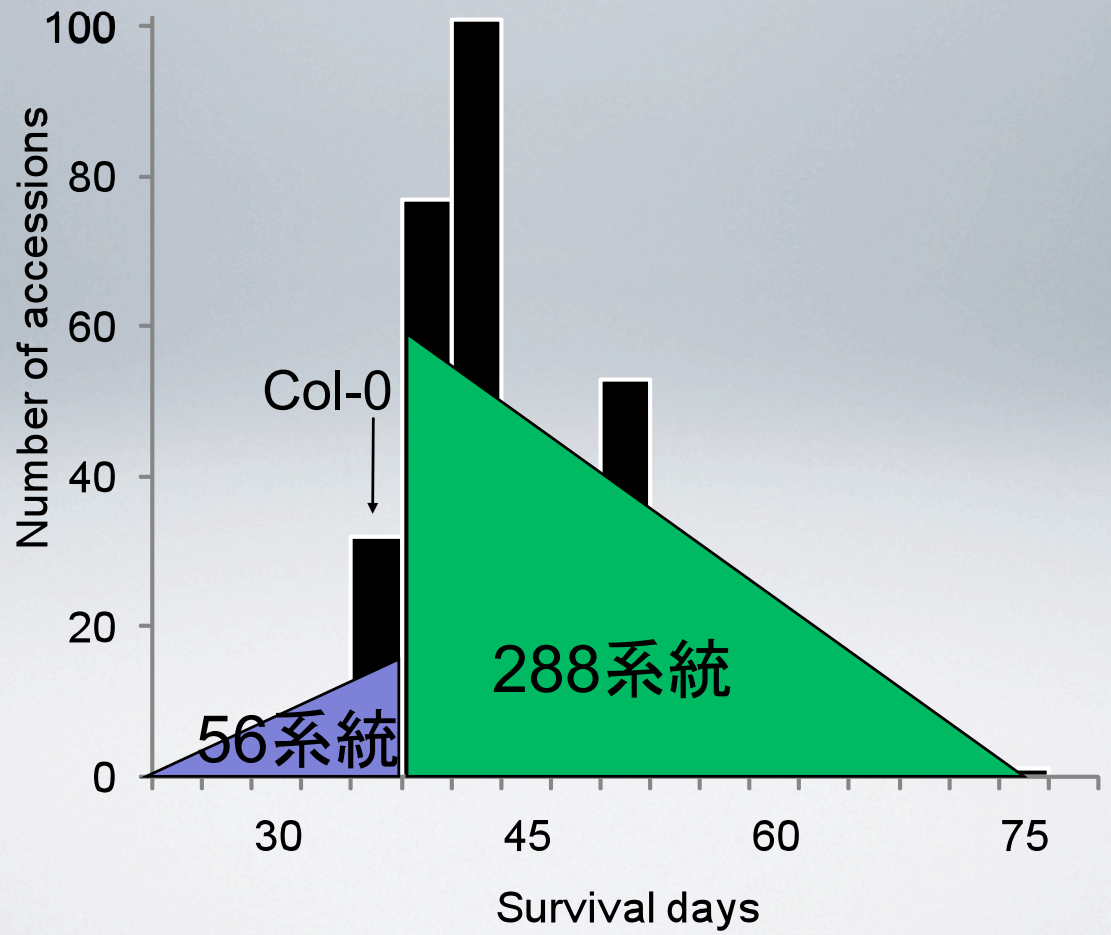
NATURAL VARIATIONを利用した
自然界におけるストレス耐性機構の解析



Arabidopsis thaliana accessions

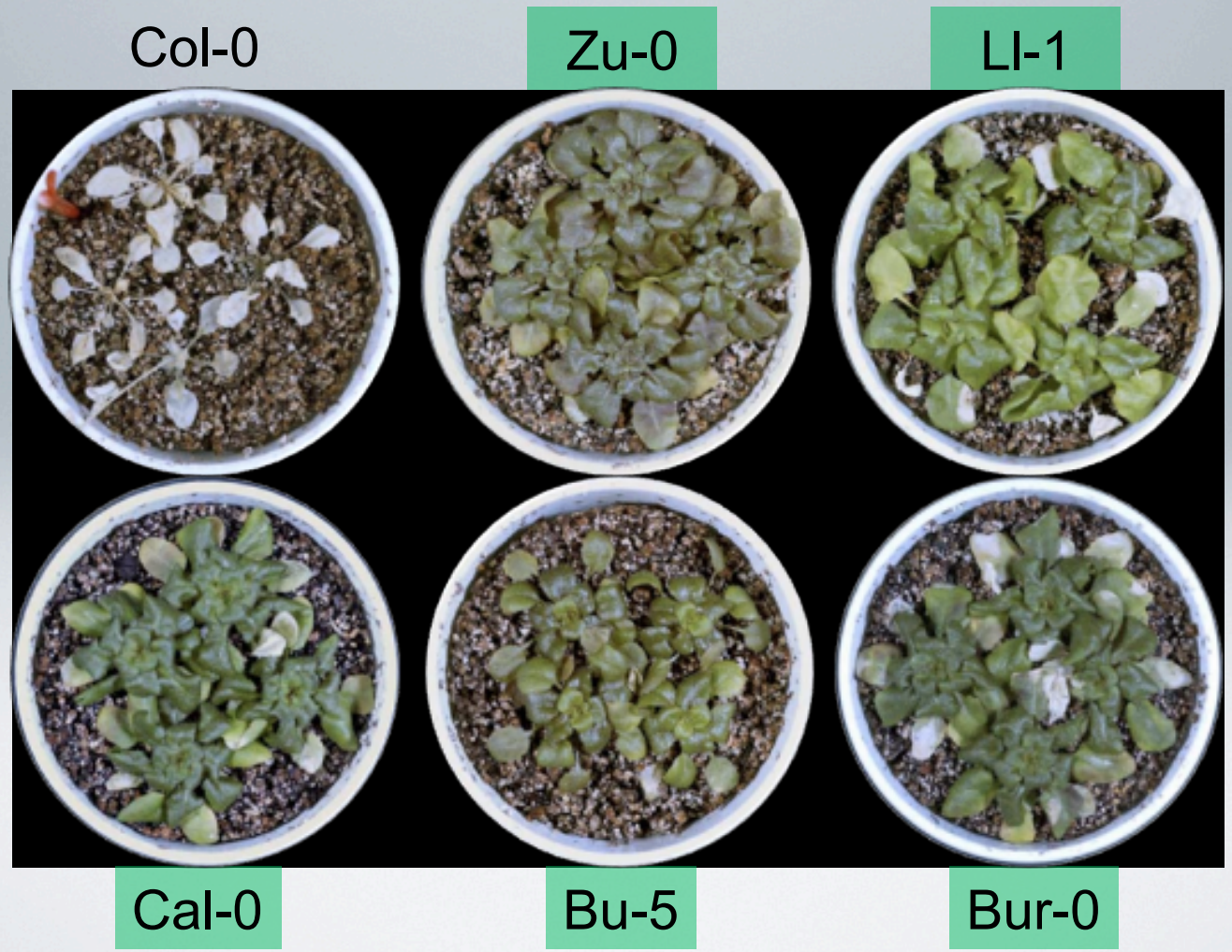
- 実験系統 Col-0 の他、世界中で約 1000 系統
- 塩基配列の違いは数百 bp に 1 つ程度
- 形態形成、開花時期、ストレス耐性が異なる
- 全ゲノムシークエンスを読む1001 genome project が進行中

Acccession間には耐塩性に大きな差が見られる



(Katori *et al.*, 2010 *Journal of Experimental Botany*)

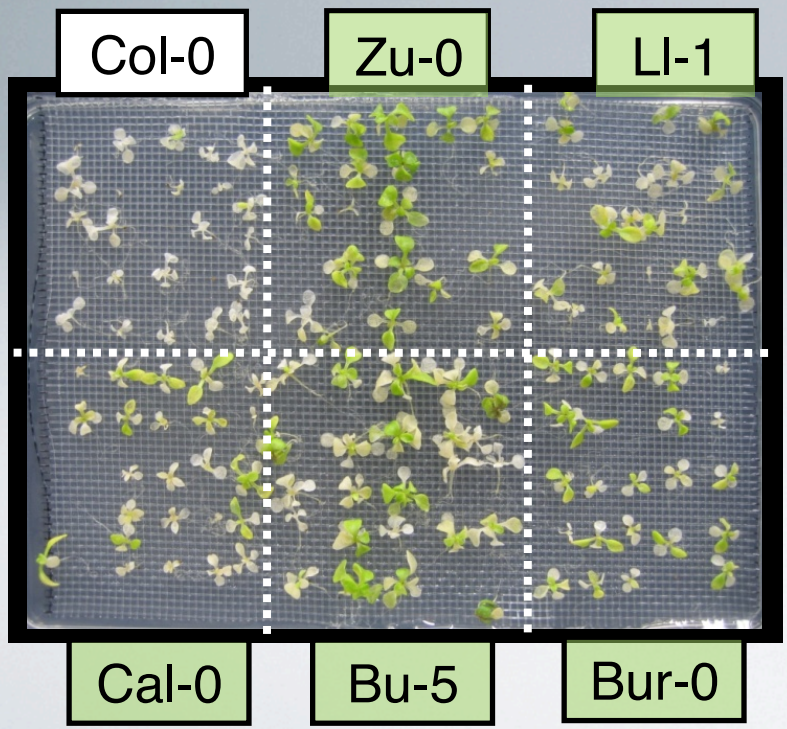
耐塩性accessions



耐塩性accessionsは ABA高感受性である

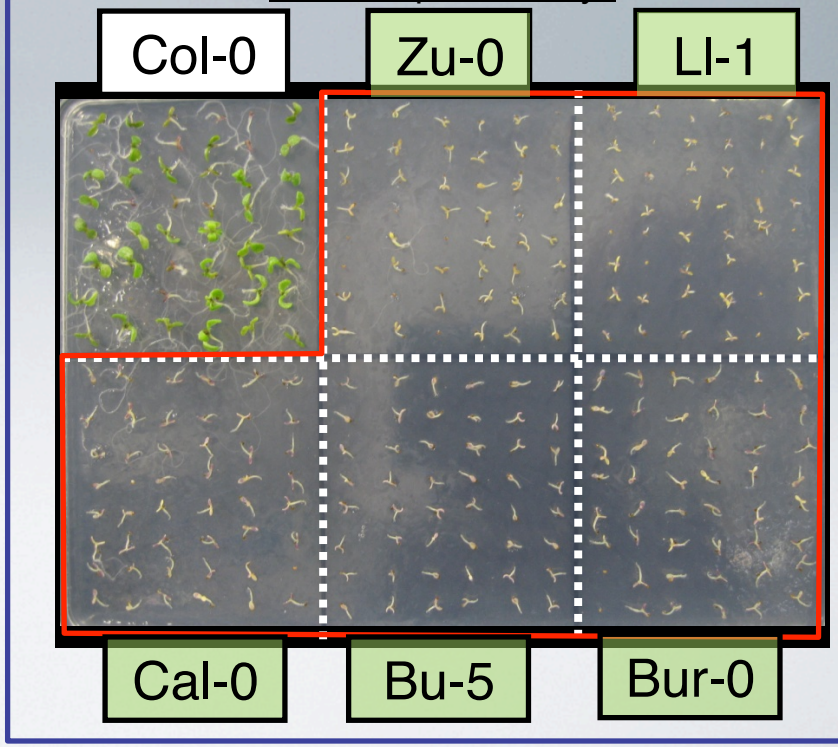
耐塩性試験
(植物体時)

0 mM 7 days → NaCl 225 mM 14 days



ABA 感受性試験
(発芽時)

ABA 2.0 μM 21 days



Natural variationの解析から

自然界においても、ABA の応答性向上が耐塩性と密接に関連していることが明らかとなった。

FOX huntingによる環境ストレス耐性遺伝子の探索

ハロフィラ
(*Thellungiella halophila*)

•海水レベルの塩濃度でも生育可能

•耐熱性や活性酸素耐性にも優れている

•サイズが小さい、生活環が短い、種子の数が多い

•Arabidopsis と同様の形質転換方法を用いることが可能

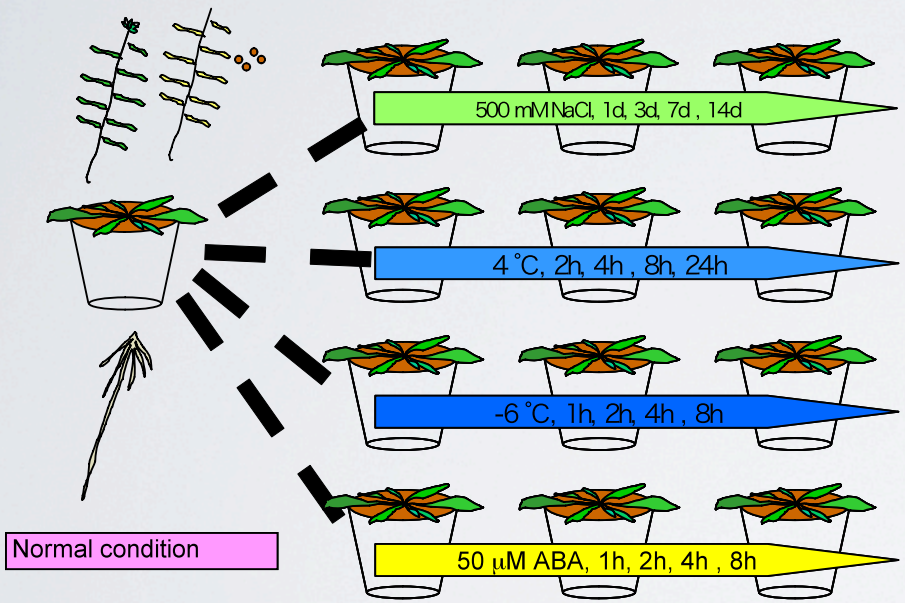
•Arabidopsis と核酸レベルで 90 %以上の相同性を有する

•2008年から Thellungiella ゲノムプロジェクトがスタート

•約 9600 の独立した完全長 cDNA ライブラリーを当研究室で保有している

ハロフィラ
(*Thellungiella halophila*)

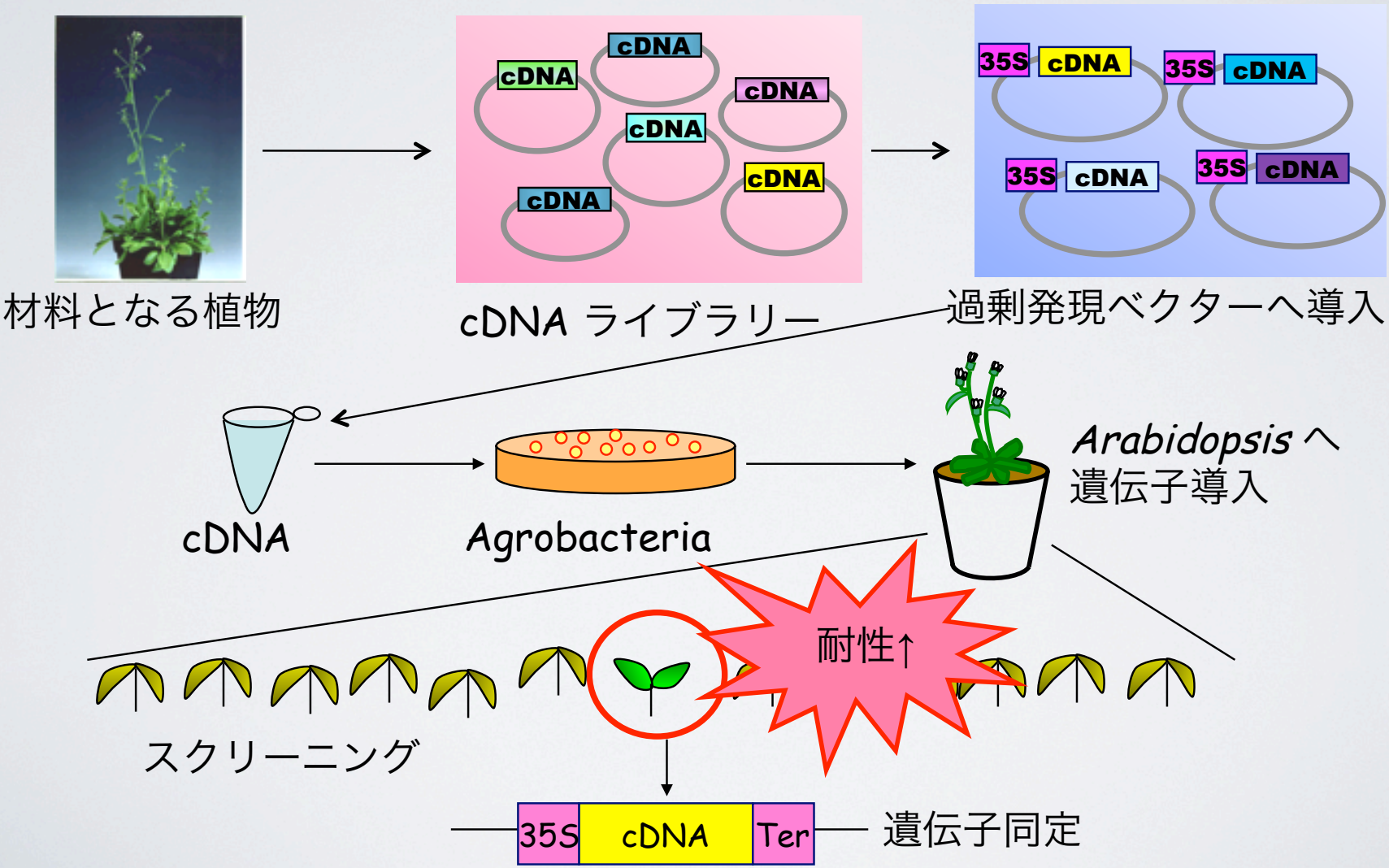
RIKEN Thellungiella Full-length cDNAs



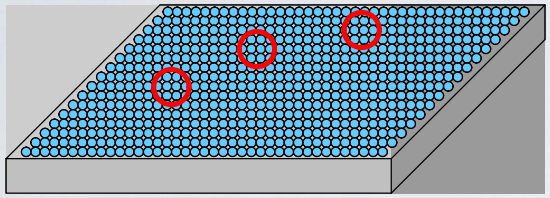
完全長cDNA ライブラリーを作成

20,000 クローンの両端読みシークエンスの結果、9569個の独立した遺伝子の存在が確認された

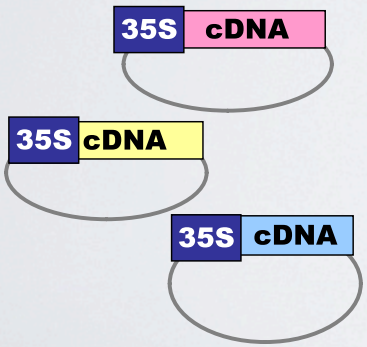
Fox hunting system

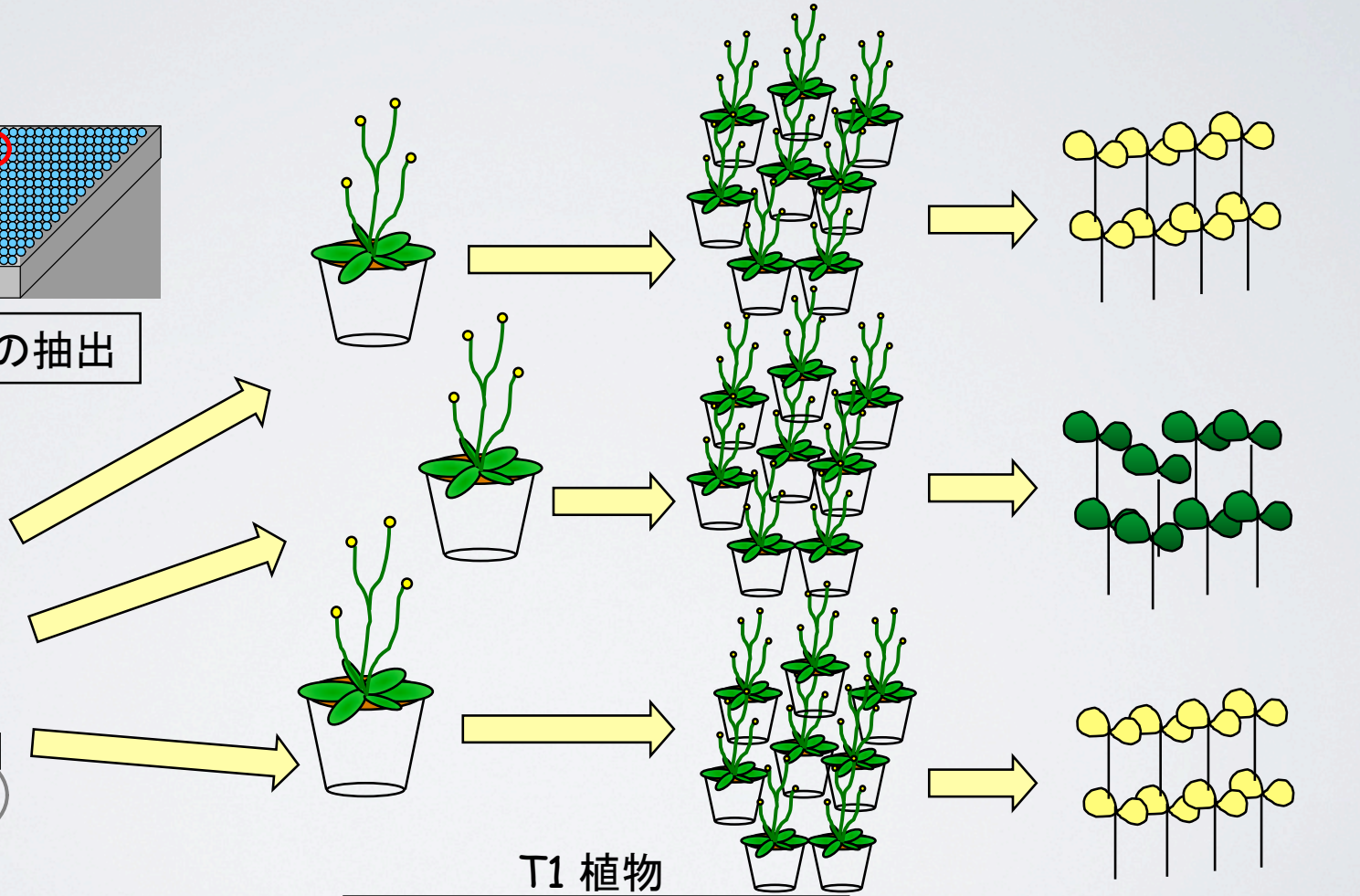


スクリーニングの流れ



ターゲット遺伝子の抽出





T1 植物

個別にライン化し1遺伝子
につき8ラインずつ整備

T2 植物

ストレス耐性試験

前回報告時

- 耐塩性遺伝子

  Na+アンチポーター

  RNA結合タンパク質

  bile acid /Na+ シンポーター

- 耐熱性遺伝子

  チオレドキシン

  SDR

FOX huntingより得られた形質転換体と耐性付与遺伝子数

遺伝子数	9569
形質転換体の獲得数	3488
スクリーニング数	143
塩ストレス耐性遺伝子	9
浸透圧ストレス耐性遺伝子	2
高温ストレス耐性遺伝子	4

ストレス耐性植物作出に向けて

- 乾燥ストレス時におけるLEAタンパク質の発現誘導
- 栄養生長時のABA感受性の向上
- 複数遺伝子を導入し、ストレス耐性システムを全体として強化する。