

2004年3月26日  
独立行政法人 理化学研究所

## 種子を眠りから目覚めさせる遺伝子を同定

### - コムギの耐穂発芽品種の作出に期待 -

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、植物ホルモンであるアブシジン酸(ABA)<sup>\*1</sup>の主要な不活性化酵素である ABA 8'-水酸化酵素<sup>\*2</sup>の遺伝子を世界で初めて同定し、この遺伝子を失った植物の種子は深く休眠することを明らかにしました。理研植物科学研究センター（杉山達夫センター長）生長生理研究グループ（神谷勇治グループディレクター）生殖制御研究チームの南原英司チームリーダー、久城哲夫研究員、岡本昌憲研修生らの成果です。研究チームでは、種子に内在する"植物の眠り薬"である ABA 量の調節メカニズムに注目しました。種子の休眠は ABA によって調節されており、休眠時には ABA を蓄積（合成）し、種子発芽時には ABA を代謝（分解）します。ABA の代謝は種子の"休眠解除の鍵プロセス"であると考えられています。これまで、ABA の合成については研究がよく進んでいましたが、分解に関わる主要な酵素である ABA 8'-水酸化酵素は遺伝子レベルで全く理解されていませんでした。今回の研究では、研究チームはゲノム配列が解読されているシロイヌナズナを実験材料として ABA 8'-水酸化酵素の遺伝子の同定を行い、4 つの CYP707A 遺伝子<sup>\*3</sup>が ABA 8'-水酸化酵素遺伝子であることを突き止めました。また、これらの中で種子発芽時に強く発現する CYP707A2 (CYP707A 遺伝子の 1 つ) 遺伝子が壊れた種子は眠りが深く、著しい発芽遅延を示すことにより、CYP707A2 は休眠を解除する遺伝子 ("休眠解除の鍵") であることを明らかにしました。コムギを例にとると、"種子を眠らせること"は収穫上の重要な課題です。コムギの 1 つの特徴として収穫期の天候の状態ですべての穂上で種子が一斉に発芽する「穂発芽」というものがあります。「穂発芽」は発芽時に活性化される種子貯蔵物質分解酵素がコムギ種子のデンプンやタンパク質を分解してしまうことから、種子の発芽したコムギが混入した場合、小麦粉の品質を劣化することになります。雨の多い我が国では「穂発芽」は大きな問題であり、国産コムギと輸入コムギの品質を比較した場合、大きく劣る原因となっています。今回の発見は、コムギにおける CYP707A 遺伝子の機能が低下した野生種を選抜することによって、従来の育種方法よりも効率的に耐穂発芽品種を選抜できることが期待されます（特許出願中）。また、コムギにおける CYP707A の活性を調節する阻害剤等を開発することにより、収穫上の課題であった穂発芽を克服できることが期待されます（特許出願中）。本研究成果は、欧州分子生物学機構『The EMBO Journal』<sup>\*4</sup>のウェブサイト上のアドバンスト・オンライン・パブリケーション (<http://www.nature.com/embojournal/index.html>、AOP、3月18日付け、日本時間3月19日) に発表されます。

### 1. 背景

種子発芽を調節することは、農業上とても重要な問題です。コムギは収穫前に穂上で発芽すると小麦粉の品質に決定的なダメージを与えます。このように"種子を

眠らせること"や"種子を目覚めさせること"は育種上の重要な課題です。植物ホルモンである ABA は種子の中に内在する"植物の眠り薬"として働き、休眠種子内には通常、眠りのシグナルである ABA が蓄積しており、この蓄積された ABA が吸水後代謝されることによって速やかに発芽することが知られています。このように種子の ABA の代謝は"休眠解除の鍵プロセス"であると考えられていますが、この ABA 代謝に関わっている ABA 8'-水酸化酵素の遺伝子 ("休眠解除の鍵") は明らかにされていませんでした。ABA 8'-水酸化酵素は酵素学的な研究からチトクロム P450 モノオキシゲナーゼ型(P450)酵素<sup>\*5</sup>であることが知られていました。P450 は植物において多様に進化しており、様々な植物で広く存在する事が知られていますが、その多くはどのような化学反応を触媒する酵素なのか知られていません。研究チームでは、ゲノム情報が解読されたシロイヌナズナを実験材料に、ABA 8'-水酸化酵素の遺伝子の同定を行いました。

## 2. 研究成果

ゲノム配列の解読により、シロイヌナズナゲノムには 272 個の P450 遺伝子が存在することが知られていました。これらの中で 25 個の P450 はどのような化学反応を触媒するかが知られていましたが、その他の P450 についてはどのような酵素反応に関わるのかわからない機能未知の酵素でした。これまでに機能が知られている P450 の構造的な特徴、全ゲノムの遺伝子発現プロファイル、近年解読されたイネのゲノム情報との比較などから休眠を解除する候補 P450 の遺伝子を絞り込みました。絞り込んだ遺伝子を酵母の中で発現させて ABA 8'-水酸化活性を有する遺伝子の特定をおこなった結果、4 つの遺伝子 CYP707A1、CYP707A2、CYP707A3、CYP707A4)が目的の ABA 8'-水酸化酵素遺伝子であることが明らかとなりました。種子吸水時によるこれら 4 つの遺伝子の発現を調べたところ、4 つの中で CYP707A2 遺伝子だけが強く発現していることがわかりました。ABA 8'-hydroxylase 遺伝子はシロイヌナズナで 4 つあり、各々が異なる器官で発現しています。4 つの CYP707A の mRNA は配列の違いで容易に区別できます。(図 1) このことにより世界で初めて CYP707A2 遺伝子は種子休眠解除のための発芽時の急激な ABA の代謝を担っている遺伝子であると分かりました。さらに CYP707A2 遺伝子が壊れた突然変異株 (cyp707a2 変異株) を調べてみました。Cyp707a2 変異株は種子休眠が深く、著しい発芽遅延が観察されました。(図 2) また、Cyp707a2 変異株種子は正常型種子と比べて 5 倍以上の ABA が蓄積しており、この蓄積された ABA は吸水後も高いレベルを保つ事がわかりました。

## 3. 今後の展望

データベースの配列から CYP707A 遺伝子はシロイヌナズナ以外の植物にも広く保存されていることが類推されています。この発見は、コムギを始めとする農作物種子の眠りと目覚めをコントロールすることが期待されます。また、ABA は種子休眠以外にも植物の低温や乾燥ストレス適応反応のシグナルとして働くことが知られており、実際に ABA の内生量や感受性を調節することによって植物が低温や乾燥ストレスに強くなる事が知られており、ストレス耐性植物の作出など様々な応用が期待されます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

植物科学研究センター 生殖制御研究チーム

チームリーダー 南原 英司

Tel : 045-503-9666 / Fax : 045-503-9665

グループディレクター 神谷 勇治

Tel : 045-503-9660 / Fax : 045-503-9665

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

## <補足説明>

### ※1 ABA

種子休眠や植物の低温、乾燥、塩ストレス防御機構のシグナルとして機能する植物ホルモンの一つ。カロテノイドを前駆体として合成される。植物内の ABA 量は上記の条件で強く蓄積され、その後の種子発芽やストレス条件から解放された時に速やかに減少する。

### ※2 ABA 8'-水酸化酵素

ABA の不活性化は酸化反応と付加反応に大別される。生理現象と連動した ABA の代謝はほとんど全て酸化反応であり、酸化反応は主に ABA の C8'位のメチル基を水酸化する反応 (ABA 8'-水酸化) である。8'-水酸化 ABA は分子内異性化により速やかに生理活性が低いファゼイン酸に変換される。

### ※3 CYP707A 遺伝子

チトクロム P450 遺伝子群は、遺伝子の構造を元に CYP 番号を付けて分類されている。P450 タンパク質の構造が 40%以上の相同性がある場合は同じ CYP 番号を付け(CYP family)、さらに構造が類似しているものには (55%以上) 数字の後ろにアルファベットを付けて(CYP subfamily)各々を区別する。CYP subfamily 番号が同じ P450 は同一の機能を持つ重複遺伝子であると考えられる。

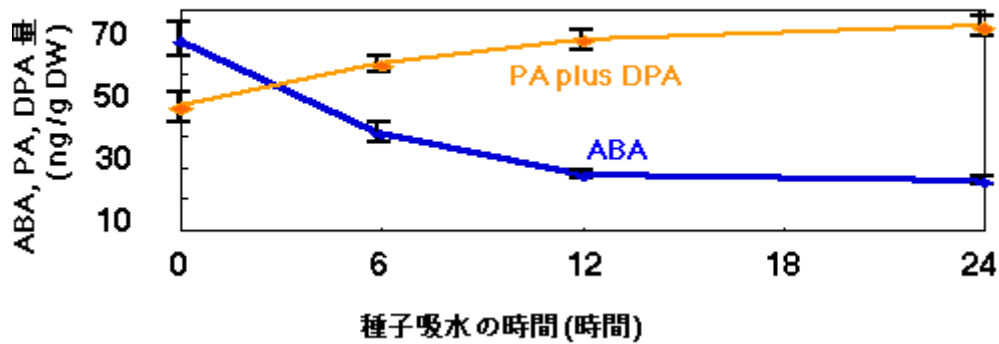
### ※4 EMBO Journal 誌

The EMBO Journal は分子生物学全般において、厳しいピアレビューを受けた影響力のある論文を過去 20 年間にわたって掲載しています。クオリティーの高さはインパクトファクターにも反影され 2002 年には 10.698 と、分子生物学分野における最も引用度数の高いジャーナルの一つです。Thomson ISI 社の 2001 年版のリストにおいて、インパクトファクターが 10 を越えるものは、全 5752 誌中 73 誌である。

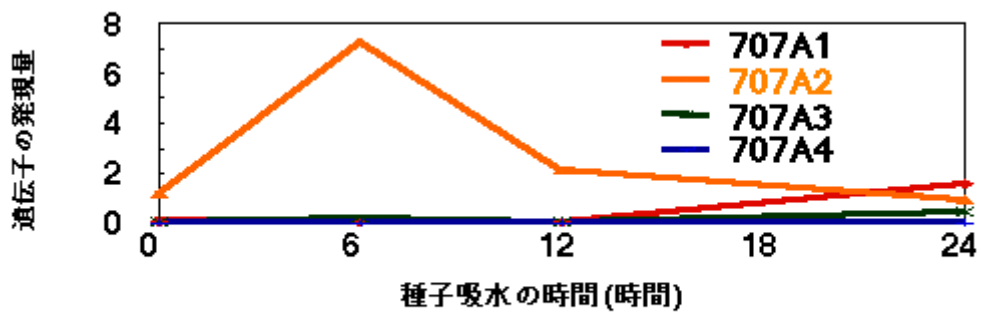
## ※5 チトクロム P450 モノオキシゲナーゼ型(P450)酵素

酵母から動物まで広く分布する酸化酵素。酸素分子を活性化し有機基質に導入する酸素添加酵素。

### 種子の眠りを調節するCYP707A遺伝子



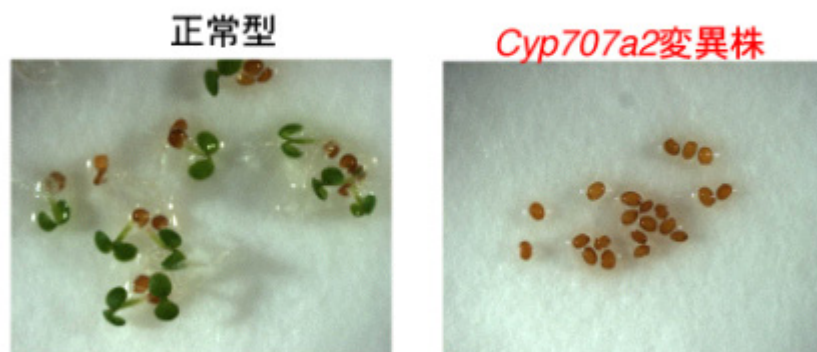
種子が発芽する時にはABAがPA（もしくはDPA）に代謝されます



4つのCYP707A遺伝子のうちCYP707A2 が種子発芽時に発現している

(図 1)

CYP707A2 遺伝子が壊れた変異株は著しい発芽遅延を示す



(図 2)