

2006年4月4日

独立行政法人 理化学研究所

乾燥耐性を発揮する植物ホルモンを自在に操る

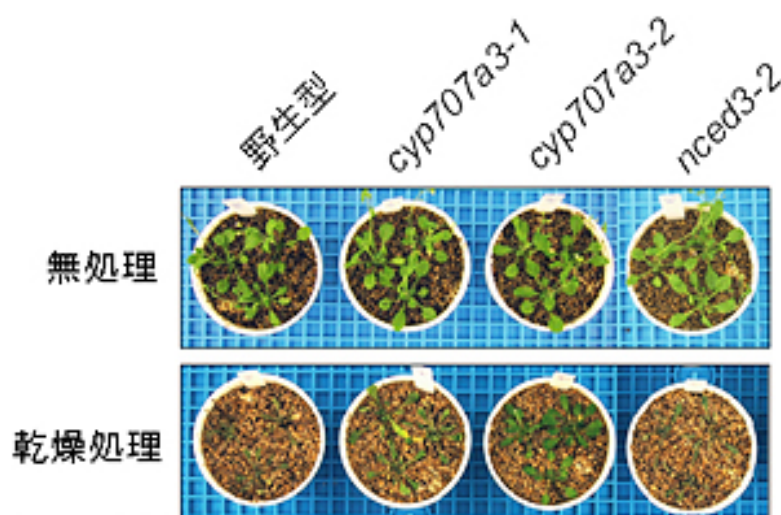
- 作物種子の改良や乾燥耐性作物の開発に道 -

生物にとって、水分補給は生死に関わる重要な問題です。動物は、水を求めて動きまわりますが、動くことができない植物は、葉の裏にある「気孔」という孔が開閉し、水分の出入りを調節しています。

この気孔の調節を司っているのが、「アブシジン酸」という植物ホルモンです。周囲が乾燥すると、アブシジン酸が合成されて量が増え、気孔が閉じて植物体内に水分が保たれます。そして乾燥状態でなくなると、アブシジン酸は分解されて一定のレベルまで戻ります。

植物科学研究センター機能開発研究チームは、このアブシジン酸分解の仕組みを遺伝子レベルで解明。アブシジン酸分解酵素のひとつである「CYP707A3」が、アブシジン酸分解の要であることを突き止めました。

研究チームは、アブシジン酸を合成する酵素の遺伝子も発見しています。アブシジン酸の合成と分解を司る、ふたつの酵素の働きを遺伝子レベルでコントロールして、発芽しにくく長期保存が可能な種子や、乾燥に強い植物を開発することも夢ではありません。



(図) 酸化酵素CYP707A3の遺伝子が植物ホルモン「アブシジン酸 (ABA)」の分解機構に関与

2006年4月4日
独立行政法人 理化学研究所

乾燥耐性を発揮する植物ホルモンを自在に操る

- 作物種子の改良や乾燥耐性作物の開発に道 -

◇ポイント◇

- 植物ホルモン「アブシジン酸」を分解する酵素「CYP707A3」が植物の乾燥耐性に重要
- CYP707A3 で植物中のアブシジン酸量の増減を 1/3~2 倍の範囲で制御することに成功
- 植物ホルモン量を自由に制御することで作物種子の改良や乾燥耐性作物の開発へ

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、種子の成熟や乾燥ストレスを受けた時の応答にとって鍵となる植物ホルモン「アブシジン酸（ABA）^{*1}」の分解酵素が、植物の乾燥耐性に重要な役割を果たしていることを明らかにし、この遺伝子を利用して植物体内のホルモンABA量をコントロールすることに世界で初めて成功しました。理研植物科学研究センター（篠崎一雄センター長）機能開発研究チームの梅澤泰史研究員および適応制御研究チーム（南原英司チームリーダー）の岡本昌憲研修生を中心とした研究グループによる成果です。なお、本研究は、独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構生物系特定産業技術研究支援センターの「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」の一環として実施されました。

ABAは、種子の成熟や乾燥ストレスを受けた時の応答にとって鍵となる植物ホルモンの一種です。従来、植物の種子や乾燥耐性を改良するために、植物中のABA量をコントロールする技術が望まれてきました。「CYP707Aファミリー^{*2}」はABAを分解する酵素の一種であり、今回その一つである「CYP707A3」が、乾燥ストレス時に植物に内在するABA量を調節しており、植物の乾燥耐性にとって重要な遺伝子であることを初めて明らかにしました。また、CYP707A3 を用いて植物中のABA量を 1/3 量あるいは 2 倍弱へと人為的に変化させることにも成功しました。この成果は、植物中のABA量を調節する基盤技術の一つとして利用することを可能としたもので、今後は作物種子の改良や乾燥耐性作物の開発など、様々な農業・園芸分野への応用が進むものと期待されます。

今回の成果は、英国の科学雑誌『The Plant Journal』4月号に掲載されます。

1. 背景

植物ホルモンの一つであるアブシジン酸（ABA）は、種子が成熟するときに休眠を誘導し、さらに植物が乾燥などの環境ストレスにさらされた時に様々な応答機構を制御するなどの重要な生理作用を持っています。このABAは、種子の成熟時や植物が乾燥にさらされたときなどに蓄積量が増えるという特徴がありますが、その反面、雨などで水分が得られるとABA量は減少します。このように、植物にとって常に適したABA量が維持されていることから、ABAの合成および分解による内在量の調節が重要であると考えられています（図1および図2）。

近年、植物体内のABA量をコントロールすることによって種子の休眠を制御し、さらに植物に乾燥耐性を付与するという考え方が支持されています。植物体内の

ABA量をコントロールするためには、ABAの生合成および分解のメカニズムを明らかにして、ABA量を制御するためのツール（遺伝子など）を手に入れなければなりません。これまでに、植物におけるABAの生合成経路が次々に明らかにされてきましたが、ABAの分解経路については不明な部分が多く残されていました。ところが最近になって、ABA分解の第一段階を触媒するABA8'位の水酸化酵素の実体が、チトクロムP450酸化酵素^{*3}の一種であるCYP707Aファミリーであることが明らかとなり、その働きが注目されています（図2）。モデル植物であるシロイヌナズナにはCYP707A1~4の4つの遺伝子が存在していますが、それぞれの機能分担は完全には明らかになっておらず、また遺伝子工学的な利用も進んでいませんでした。

2. 研究手法と成果

植物が乾燥を受けるとABA量が増加し、ABAの作用によって気孔の閉鎖や様々な遺伝子発現などの防御機構が活性化されます。この防御機構は、植物が乾燥に耐えるための基本的な仕組みの一つです。乾燥が解除されるとABAは速やかに分解され、植物の生育に影響のないレベルにまで下げられ防御機能はなくなります。

今回の研究では、この乾燥ストレス時におけるABAの分解機構に着目しました。まず、シロイヌナズナに4つあるCYP707Aファミリーの遺伝子発現をノーザン解析法によって調べたところ、その一つであるCYP707A3が乾燥ストレスやその後の再吸水処理でもっとも強く誘導されることがわかりました（図3）。CYP707A3遺伝子の働きが失われたシロイヌナズナ変異体を調べてみると、乾燥ストレス時のABA量が野生型に比べて2倍弱程度増加しており、乾燥に対して2倍以上の強い耐性を示しました。このことから、CYP707A3が植物の乾燥ストレス応答にとって主要な働きを持っていることを初めて解明しました。

さらに、このCYP707A3遺伝子を過剰に発現させたシロイヌナズナを作製したところ、植物中のABA量が1/3程度に低下し、通常条件でも葉がしおれる現象が見られました（図4）。つまり、CYP707A3遺伝子の働きを抑えることによってABA量を増やすことができる一方で、CYP707A3の働きを強めることによってABA量を減少させることが可能となりました。この結果は、CYP707A遺伝子の遺伝子工学的利用の可能性を開くものであり、植物中のABA量を制御するための基盤技術となることが期待されます。

3. 今後の期待

植物中のABA量を制御する技術は、作物の改良において様々な局面に利用できる可能性があります。たとえば、作物の種子中のABA量を制御することで、穂発芽を防ぎ長期保存可能な種子を作るといったことが可能になります。また、作物や樹木中のABA量を調節することによって乾燥耐性を付与し、農業における生産性を向上させることができます。これまで研究グループは、ABAの合成酵素遺伝子である「AtNCED3遺伝子^{*4}」を用いてABA量を増加させる試みを行ってきましたが、ABA量が十分に増えないといった問題や、逆にABA量を減らしたいときには使えないといった問題があり、植物中のABA量を正確に制御する技術を確立することができませんでした。今回、研究グループはABAの合成（AtNCED3遺伝子）と分解（CYP707A3遺伝子）という両方のツールを得たことになり、ABA量を思うとお

りに制御することができる技術を確立することが期待されます。これらの遺伝子については特許を取得しており、今後はCYP707A3 およびAtNCED3 遺伝子の両方を用いて植物中のABA量をよりきめ細かく制御する技術を開発し、作物や園芸植物への応用を目指していきたいと考えています。

(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 機能開発研究チーム

チームリーダー 篠崎 一雄

Tel : 045-503-9578 / Fax : 045-503-9580

研究員 梅澤 泰史

Tel : 029-836-4359 / Fax : 029-836-9060

横浜研究推進部

溝部 鈴

Tel : 045-503-9117 / Fax : 045-503-9113

(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 アブシジン酸

英名で abscisic acid といい、ABA と略される。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。ABA が合成できない突然変異体では、乾燥耐性が極端に低下し、葉がしおれたり種子が正常に成熟できなくなったりするなどの障害が生じる。

※2 CYP707A ファミリー

チトクロム P450 遺伝子群の一つで、2004 年に理研植物科学研究センターおよび京都大学のグループがほぼ同時に ABA 8'位水酸化酵素をコードする遺伝子として単離した (平成 16 年 3 月 6 日プレスリリース)。ABA 8'位水酸化反応は ABA 分解の第一ステップであり、植物中の ABA 量を調節する重要な反応であると考えられている。シロイヌナズナには CYP707A1~4 の 4 つの遺伝子が存在する。

※3 チトクロム P450 酸化酵素

微生物から動物、植物まで生物界に広く分布する一群のヘムタンパク質で、一酸化

炭素と結合して 450 ナノメートルに特徴的な極大吸収をもつことから、P450 と呼ばれる。P450 は少数の例外を除いて、膜結合型タンパク質で一原子酸素添加反応を触媒する。高等植物は、線虫、ショウジョウバエ、ヒトなどと比較して際立って多数の P450 分子種を持つ。したがって、植物特有の環境応答や発生メカニズムに P450 遺伝子群は重要な役割を果たしていると考えられている。

※4 AtNCED3 遺伝子

9-*cis*-エポキシカロテノイドジオキシゲナーゼ (NCED) は、植物における ABA 合成の律速段階を触媒する酵素である (図 2)。我々の研究グループではシロイヌナズナに 5 つある NCED 遺伝子のうち、AtNCED3 遺伝子が乾燥ストレス時の ABA 合成に重要であることを示し、また AtNCED3 遺伝子を遺伝子工学的に利用して、ABA 量が増加し乾燥耐性を向上させた植物の開発に成功している。しかしながら、ABA 量の増加は十分なものとは言えず、期待通りの結果が得られているわけではない。

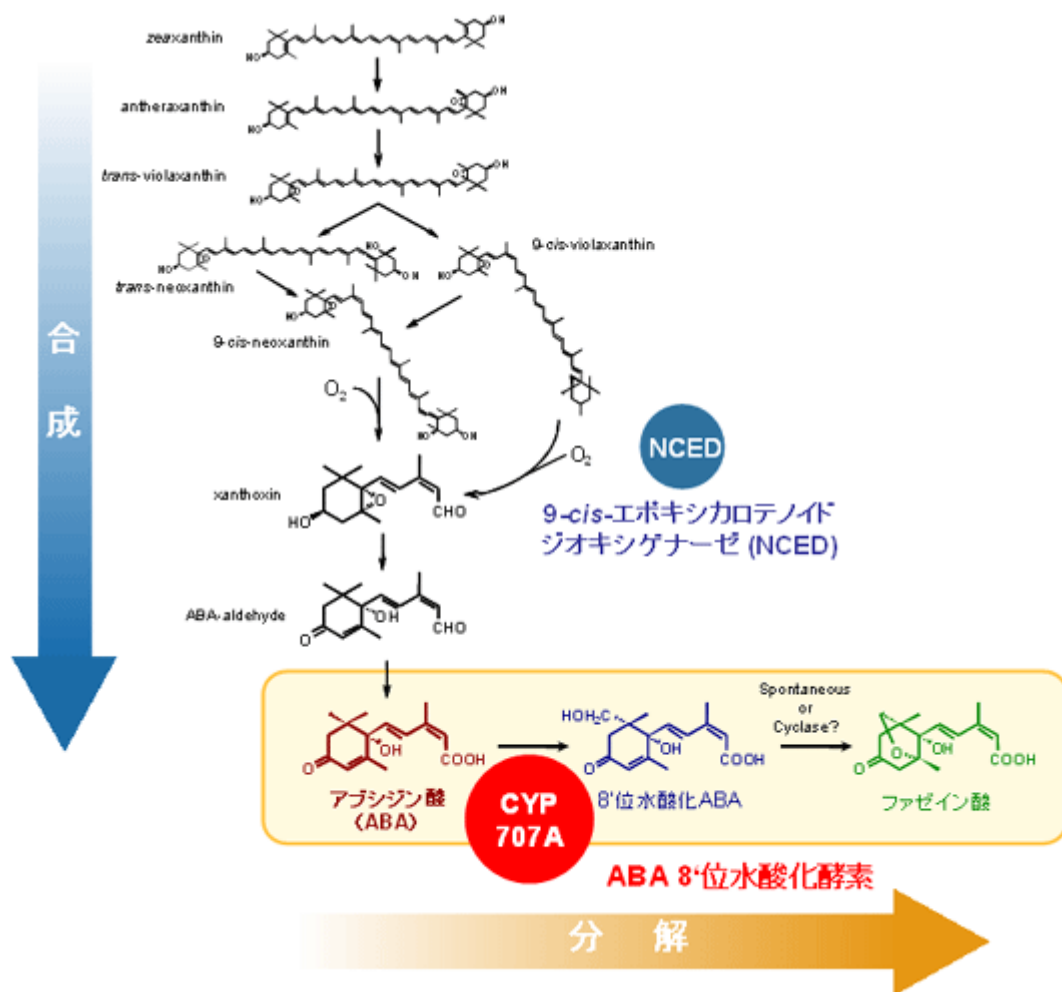


図 1 植物におけるアブシジン酸の生合成および分解経路

ABA の合成系では、NCED (9-*cis*-エポキシカロテノイドジオキシゲナーゼ) による

カロテノイドの開裂反応が律速段階であるとされている。一方、分解系では初発の ABA8'位の水酸化反応を触媒する CYP707A がもっとも重要と考えられている。

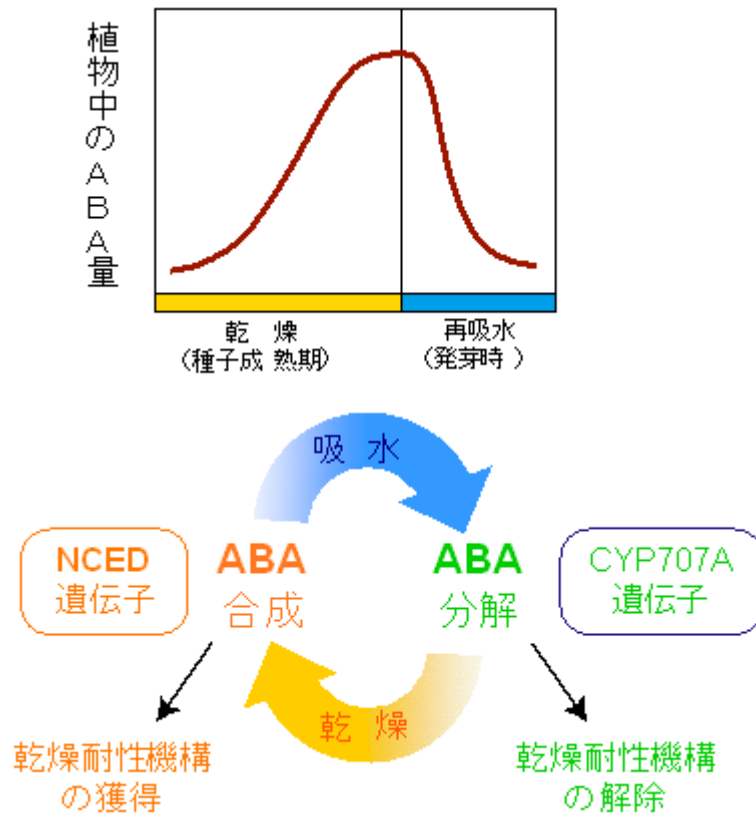


図 2 植物の中では ABA 量がダイナミックに調節されている

植物が乾燥にさらされたり、種子が成熟する時には ABA が合成され、ABA 量が増加する。増加した ABA は乾燥に対する防御メカニズムを活性化させ、植物に乾燥耐性が付与される。一方、乾燥が解除されたり、種子が吸水して発芽するときには ABA の分解系が活性化し、ABA の蓄積量は生育に問題のないレベルにまで減少する。

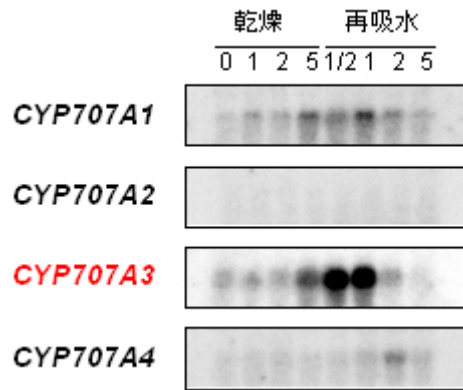


図3 CYP707A ファミリーの遺伝子発現解析

CYP707A ファミリーはシロイヌナズナに4つ存在する。ノーザン解析によって遺伝子発現を見たところ、乾燥および再吸水処理によって、CYP707A3 がもっとも強く発現誘導されることが明らかとなった。

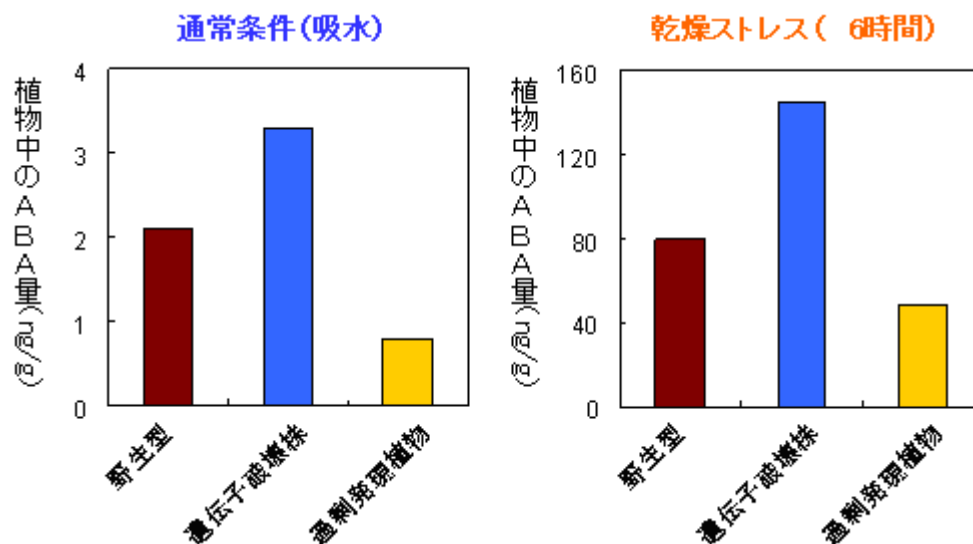


図4 CYP707A3 ノックアウト植物および過剰発現植物の ABA 含量

シロイヌナズナは通常条件では2ng/g程度のABAを含有するが、乾燥6時間後には約80ng/gへと急速にABA量が増加する。CYP707A3遺伝子の遺伝子破壊株では、通常条件および乾燥条件の双方でABA量が増加しており、逆に過剰発現植物ではABA量が最大1/3程度まで減少していた。したがって、CYP707A3遺伝子を利用することで、植物中のABA量の増減をコントロールすることが可能である。



図5 CYP707A3 過剰発現植物の写真

CYP707A3 を過剰発現させると、葉がしおれ、植物体全体が小さくなる。これは、ABA を合成できない変異体とよく似た表現型である。実際に ABA 量を測定したところ、CYP707A3 過剰発現植物では ABA 量が減少していることが確認できた (図 4)。したがって、CYP707A3 遺伝子は植物中の ABA 量を制御する遺伝子工学的なツールとして利用可能である。