

3. 植物ホルモンのアブシジン酸による遺伝子発現を制御する転写因子 AREB を用いた環境ストレス耐性植物の作出

〔要約〕

アブシジン酸による遺伝子発現を制御するシロイヌナズナの転写因子 AREB1 を改変することにより活性型に変換することに成功した。活性型 AREB1 を植物中で高発現すると、LEA タンパク質など数種の耐性遺伝子が高発現して植物の乾燥ストレス耐性が向上することを明らかにした。

所属	国際農林水産業研究センター・生物資源部		連絡先	029 (838) 6305			
推進会議名	国際農林水産業	専門	バイテク	対象	アブラナ科植物	分類	研究

〔背景・ねらい〕

アブシジン酸 (ABA) は、種子の休眠、成熟過程で機能するとともに、乾燥や高塩濃度などの環境ストレス時に合成され重要な役割を果たしている植物ホルモンである。本研究では、ゲノム解析が進んでいるシロイヌナズナを用いて、乾燥ストレス耐性の獲得に重要な働きを示す ABA による遺伝子発現を制御する転写因子 AREB1 の解析を行った。AREB1 は ABA 応答性シス因子 ABRE に結合する bZIP 型転写因子であるが、植物中で高発現しても機能を示さず、ABA によるリン酸化などの活性化が必要であることが示されている。そこで、活性型の AREB1 を得るため、AREB1 に変異を加えてその活性をシロイヌナズナのプロトプラストを用いた一過的発現実験系で解析した。さらに、得られた活性型 AREB1 を植物中で高発現することで植物の乾燥ストレス耐性の向上を図った。

〔成果の概要・特徴〕

1. 遺伝子発現解析の結果から、主に 3 個の bZIP 型転写因子 (AREB1, AREB2, 及び ABF3) が乾燥・塩ストレス時のシロイヌナズナの植物体中で ABA による遺伝子発現を制御していると考えられた。
2. AREB1 プロモーターを GUS リポーター遺伝子と結合して導入した形質転換植物を用いた解析から、AREB1 遺伝子は根、維管束組織、排水組織で恒常的に発現しており、ストレス条件下ではすべての組織において発現していることが示された (図 1)。
3. 細胞化学的な解析により、AREB1 タンパク質が核に局在していることを明らかにした。
4. プロトプラストを用いた一過的発現実験系で、N 末端領域が転写活性化に必要な領域であり、この領域と DNA 結合領域とを結合すると活性型の AREB1 に変換することを明らかにした (図 2)。
5. マイクロアレイ解析の結果から、活性型 AREB1 を過剰発現する形質転換植物は、ABA 非存在下においても恒常的に標的遺伝子を発現していることが示された。これらの標的遺伝子は、シグナル伝達に関わる制御遺伝子群と細胞内水分ストレスに対する防御に関わる LEA タンパク質遺伝子群に大別された。
6. 活性型 AREB1 発現植物はコントロール植物に比べて ABA に対して高い感受性を示したが、AREB1 機能欠損変異体はコントロール植物に比べて ABA に対して低い感受性を示した。
7. 活性型 AREB1 発現植物は、コントロール植物に比べて顕著な乾燥耐性能の向上がみられた (図 3)。一方、AREB1 機能欠損変異体はコントロール植物に比べて乾燥耐性能の低下が確認された。

〔成果の活用面・留意点〕

1. 活性型 AREB1 発現植物では顕著な乾燥耐性能の向上がみられたことから、乾燥ストレス耐性作物の開発のための有用遺伝子として利用を図ることができる。
2. AREB1 の相同遺伝子はイネ等の単子葉植物も含めた多岐にわたる作物種に存在していることから重要な遺伝子であると推測され、種々の作物で乾燥耐性作物の開発に利用できると考えられる。

[具体的データ]

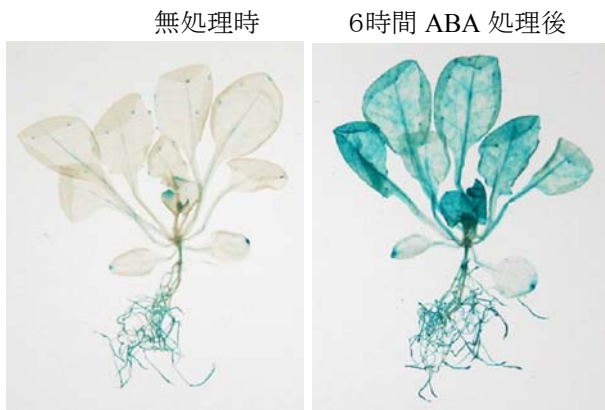


図1 ABA 処理時にすべての組織において *AREB1* 遺伝子の発現が誘導される。*AREB1* プロモーターと *GUS* との融合遺伝子を導入した形質転換植物では、青色染色が遺伝子発現部位を示す。

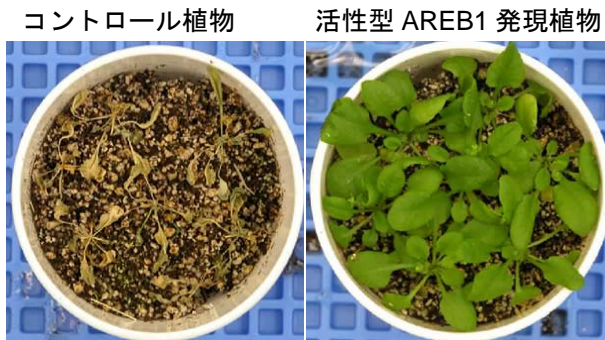


図3 活性型 *AREB1* 発現植物は乾燥耐性を示す。12日間灌水停止後10日間灌水した植物体の写真。

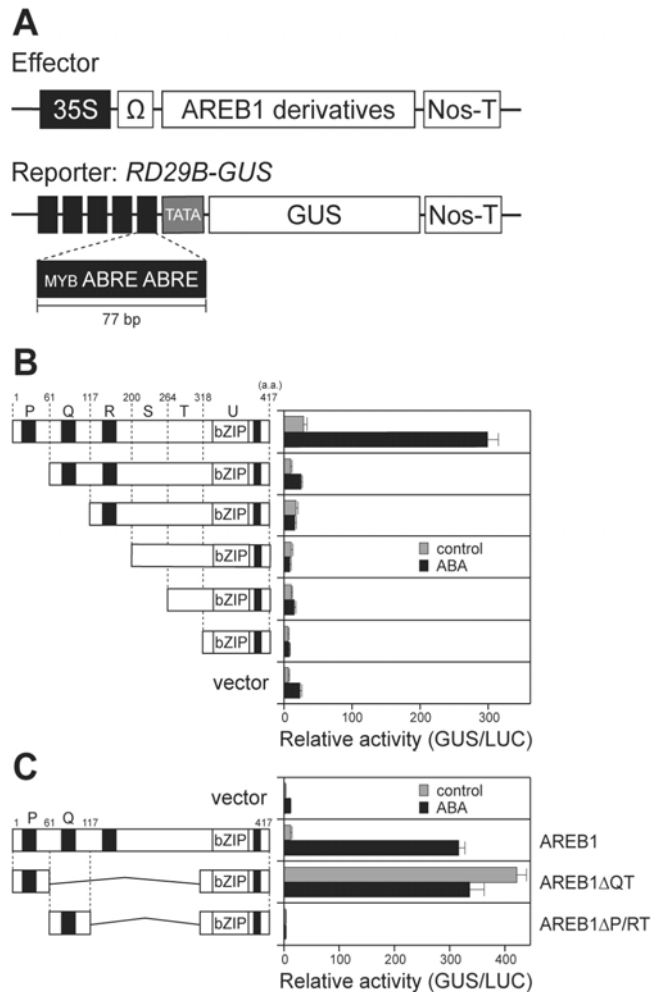


図2 シロイヌナズナのプロトプラストを用いた一過的発現実験 A. エフェクターおよびレポーター遺伝子の模式図 B. *AREB1* の N 末端の P 領域は転写活性化領域を含む C. *AREB1*ΔQT は ABA 非依存的に恒常的な転写活性を示す。

[その他]

研究課題：植物ホルモンアブシジン酸による遺伝子発現制御およびシグナル伝達機構の解明とバイオテクノロジーへの応用

小課題番号：511

予算区分：生研センター〔植物ホルモン〕

研究期間：2001～2005年度

研究担当者：篠崎和子・藤田泰成・降旗敬・佐藤里絵・中島一雄・圓山恭之進

発表論文等：

- 1) Fujita, Y., Fujita, M., Satoh, R., Maruyama, K., Parvez, M.M., Seki, M., Hiratsu, K., Ohme-Takagi, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2005) *AREB1* is a transcription activator of novel ABRE-dependent ABA-signaling that enhances drought stress tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell* 17, 3470-3488.
- 2) Furihata, T., Maruyama, K., Fujita, Y., Umezawa, T., Yoshida, R., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2006) ABA-dependent multisite phosphorylation regulates the activity of a transcription activator *AREB1*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 1988-1993.
- 3) 篠崎和子、藤田泰成、圓山恭之進「活性型 *AREB1* により植物の乾燥ストレス耐性を向上させる方法」平成17年11月1日、特願2005-318871.