

## 4. 転写因子 *DREB1* 遺伝子の過剰発現によるイネの乾燥・高塩・低温ストレス耐性の向上

### 〔要約〕

転写因子 *DREB1* 遺伝子を過剰発現させた形質転換イネにおいては、乾燥・高塩・低温ストレス耐性が向上した。この形質転換イネでは少なくとも 12 個の耐性の獲得に関与すると考えられる標的遺伝子の発現レベルの上昇が確認され、耐性獲得に機能することが知られる適合溶質のプロリンや糖類の蓄積が明らかにされた。

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	イネ類	分類	研究

### 〔背景・ねらい〕

植物は劣悪環境状態になると、多数の耐性遺伝子群を働かせることにより劣悪環境に適応している。これまでにモデル植物のシロイヌナズナを用いて、これらの環境耐性遺伝子群の働きを調節している転写因子の一つ *DREB1A* を突き止めた。この転写因子の遺伝子をシロイヌナズナで過剰発現させると、得られた形質転換体はこれまでにない高いレベルの乾燥・塩・凍結耐性を示した。一方、この *DREB1A* の相同性遺伝子をイネから単離してその機能を解析した。その結果、転写因子 *DREB1A* を介したストレス応答機構は、植物が共通に持っている環境ストレスに対する耐性獲得機構と考えられた。そこで、*DREB1* 遺伝子を過剰発現させたイネを作出し、そのストレス耐性の向上を解析した。

### 〔成果の概要・特徴〕

1. イネの *OsDREB1A*、*OsDREB1B*、シロイヌナズナの *DREB1A*、*DREB1B*、*DREB1C* 遺伝子を過剰発現する形質転換イネ(品種:キタアケ)を作出した。
2. 得られた形質転換イネ(品種:キタアケ)は、*DREB1* 遺伝子を過剰発現するシロイヌナズナと同様に、生長の遅れや矮化を示した。
3. この *DREB1* 遺伝子を過剰発現するイネ(品種:キタアケ)の環境ストレス耐性を調べたところ、形質転換イネは野生型のイネに比べ、乾燥、塩、低温ストレス下で高い生存率を示し、*DREB1* 遺伝子を過剰発現することでイネの環境ストレス耐性が向上することが明らかとなった(図1)。
4. *DREB1* 遺伝子を過剰発現するイネ(品種:キタアケ)において、ストレス耐性の獲得に機能することが知られている適合溶質の含量を調べたところ、プロリン(図2)や各種糖類の含量が、野生株に比べ上昇していた。
5. 分子生物学的解析を行うため、全ゲノム配列が決定されているイネの品種(日本晴)を用いて、イネの *OsDREB1A*、シロイヌナズナの *DREB1A* 遺伝子を過剰発現させた。
6. 得られた形質転換イネ(品種:日本晴)を用いて、アジレント社の 22k マイクロアレイ及びノーザン法により解析し、12 個の標的遺伝子が過剰発現していることを明らかにした(図3)。
7. 過剰発現している 12 個の遺伝子中 10 遺伝子がストレス応答性を示し、8 遺伝子のプロモーター領域に *DREB* タンパク質の結合配列である *DRE* 配列(A/GCCGAC)が存在することが確認された。

### 〔成果の活用面・留意点〕

1. イネにおいても *DREB1* 遺伝子がストレス耐性の獲得機構で機能することが確認されたので、コムギやトウモロコシなど、他の単子葉作物においてもストレス耐性の付与に利用できると期待される。
2. *DREB1* 遺伝子を過剰発現する形質転換体の矮化を防ぐためには、ストレス誘導性プロモーターの利用を図る必要がある。

[具体的データ]



図1 *DREB1* 遺伝子または *OsDREB1* 遺伝子を過剰発現するイネの高塩・乾燥・低温ストレス耐性試験  
 乾燥: 給水停止9日間、高塩: 250mM NaCl 3日間、低温: 2°C 93時間

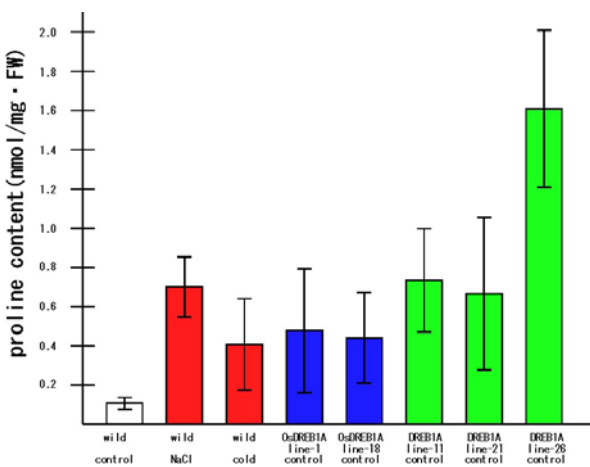


図2 *DREB1* 遺伝子または *OsDREB1* 遺伝子を過剰発現するイネのプロリン含量

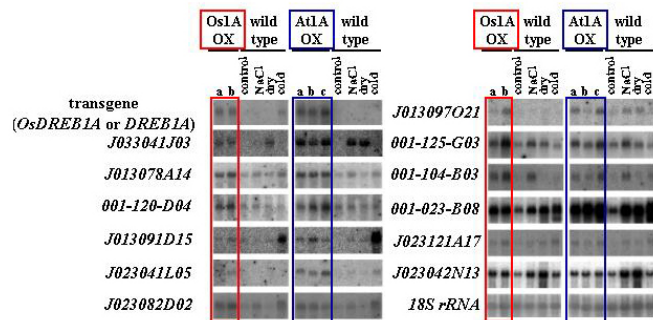


図3 *OsDREB1A* 及び *DREB1A* の標的遺伝子のノーザン法による発現解析

[その他]

研究課題: イネの環境ストレス耐性機構の解明

小課題番号: 512

予算区分: 基盤[ストレス耐性機構]

研究期間: 2003~2006年度

研究担当者: 伊藤裕介・桂幸次・圓山恭之進・篠崎和子

発表論文等:

- 1) Ito, Y., Katsura, K., Maruyama, K., Taji, T., Kobayashi, M., Seki, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2006) Functional analysis of rice DREB1/CBF-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice. *Plant Cell Physiol.* 47, 141-153.
- 2) Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. *Trends Plant Sci.* 10, 88-94.
- 3) Dubouzet, J.G., Sakuma, Y., Ito, Y., Kasuga, M., Dubouzet, E.G., Miura, S., Seki, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2003) *OsDREB* genes in rice, *Oryza Sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression. *Plant J.* 33, 751-763.