

## トウモロコシの乾燥・高温ストレス応答性遺伝子発現を制御する転写因子 ZmDREB2A を用いた環境ストレス耐性植物の作出

[要約] シロイヌナズナの *DREB2A* 遺伝子は植物の乾燥と高温の両方のストレス耐性の獲得に働くが、合成されたままでは活性を示さず翻訳後の活性化を必要とする。これに対して、トウモロコシの *ZmDREB2A* タンパク質は活性化を必要とせず、ストレスによる mRNA の スプライシング によって機能が調節されていた。スプライシング後の *ZmDREB2A* cDNA を導入した植物では、乾燥と高温ストレス に対して 高いレベルの耐性 を示した。

所属	国際農林水産業研究センター・生物資源領域	連絡先	029 (838) 6305		
専門	バイオテック	対象	アブラナ科植物	分類	研究

### [背景・ねらい]

植物は劣悪な環境になると、多数の耐性遺伝子群を働かせることにより耐性を獲得して適応している。これらの環境ストレスに対する耐性の獲得機構で働く転写因子は、一度に多数の耐性遺伝子を制御して、高い耐性を植物に付与するため重要な有用遺伝子と考えられる。シロイヌナズナにおいて、乾燥や高温ストレス耐性の獲得に機能している転写因子は、ストレス誘導性の *DREB2A* であることが明らかにされている。本研究課題では、単子葉植物であり重要な穀物でもあるトウモロコシを用いて *DREB2A* の相同性遺伝子を単離し、環境ストレス耐性獲得における機能の相違点や類似点を明らかにして、環境ストレス耐性作物の分子育種への応用のための基礎データを得ることを目的としている。

### [成果の概要・特徴]

- シロイヌナズナの *DREB2A* 遺伝子に最も高い相同性を持つトウモロコシの EST 配列をもとに、RT-PCR により *ZmDREB2A* cDNA を単離した。
- ZmDREB2A* cDNA には長鎖型 (*ZmDREB2A-L*) と短鎖型 (*ZmDREB2A-S*) が存在したが、プロトプラストを用いたトランジェント発現解析で *ZmDREB2A-L* がコードするタンパク質は活性を持たないことを示した。
- ZmDREB2A* の発現は低温、乾燥、塩、高温ストレスによって誘導され、これらのストレスにより、活性型である *ZmDREB2A-S* の存在比が増加した。これらのストレスが加わることによってスプライシングが起こり、*ZmDREB2A-L* は *ZmDREB2A-S* に変換すると考えられた。
- トランジェント発現解析により、シロイヌナズナの *DREB2A* タンパク質は翻訳後の活性化を必要とするが、トウモロコシの *ZmDREB2A* タンパク質は活性化を必要としないことを示した。
- シロイヌナズナ中で、恒常的発現を制御する *CaMV35S* プロモーターを用いて *ZmDREB2A-S* を過剰発現すると、多くの乾燥ストレス誘導性遺伝子が高発現して乾燥ストレス耐性が顕著に向上したが、同時に生育の遅延も生じた。
- 生育の遅延を抑えて乾燥耐性を向上させるため、ストレス誘導性の *RD29A* プロモーターを用いて *ZmDREB2A-S* をシロイヌナズナ中で発現させると、乾燥耐性が向上するとともに野生型と同様の生育を示した(図1)。
- ZmDREB2A-S* を過剰発現したシロイヌナズナは高温ストレス耐性も示した(図2)。
- 高温ストレス応答性遺伝子の発現は、非ストレス条件下で *ZmDREB2A-S* 過剰発現シロイヌナズナにおいて増加していた(図2)。

### [成果の活用面・留意点]

- ZmDREB2A* 遺伝子は、乾燥・高温ストレス耐性作物開発のための有用な遺伝子として利用できると期待される。
- ZmDREB2A* 遺伝子はトウモロコシ等の単子葉植物も含めた多くの作物種に利用できると考えられる。

[具体的データ]

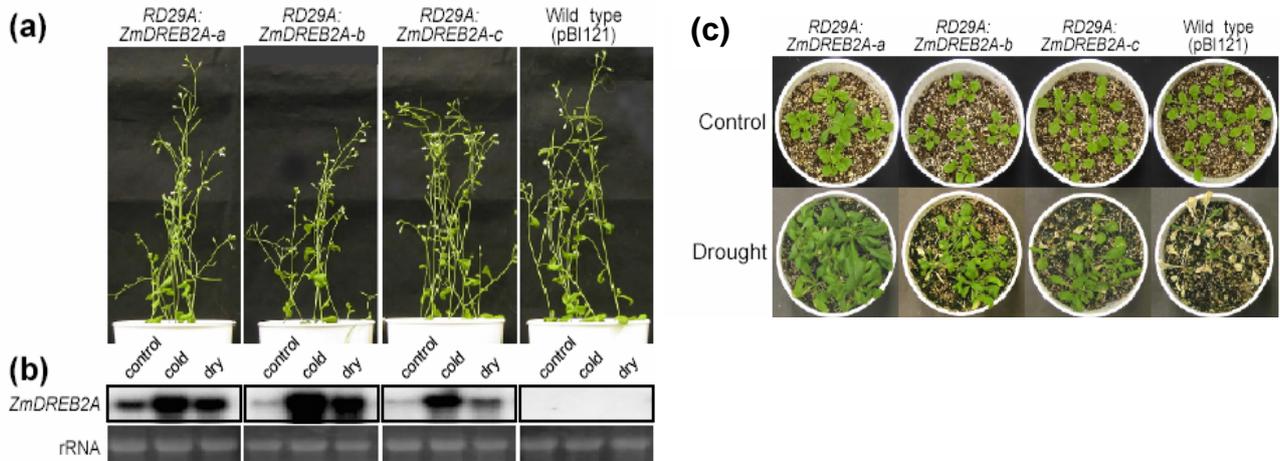


図1 RD29A プロモーターを用いて *ZmDREB2A-S* を過剰発現したシロイヌナズナ形質転換体(3種のライン)の生育(a)、導入遺伝子の発現解析(b)、乾燥ストレス耐性試験(c)(Qin et al. 2007 参照)。

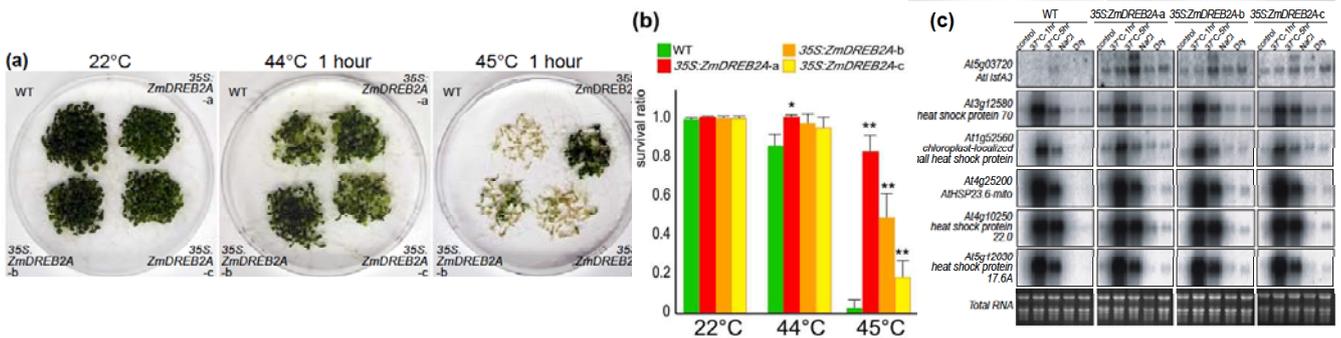


図2 *ZmDREB2A-S* を過剰発現したシロイヌナズナ形質転換体(35S:*ZmDREB2A-S*, 3種のライン)の高温ストレス耐性試験(a)、高温ストレス処理後の生存率(b)、ノーザン法による高温ストレス誘導性遺伝子の発現解析(c)。

[その他]

研究課題:植物の環境ストレス耐性機構の解明と耐性作物の開発

中課題番号:A-1)-(1)

予算区分:交付金[ストレス耐性機構]等

研究期間:2006年度(2004~2011年度)

研究担当者:秦峰・柿本真之・佐久間洋・圓山恭之進・篠崎和子

発表論文等:

- 1) Qin, F., Kakimoto, M., Sakuma, Y., Maruyama, K., Osakabe, Y., Tran, L.-S. P., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2007): Regulation and functional analysis of *ZmDREB2A* in response to drought and heat stresses in *Zea mays* L. *Plant Journal* **50**, 54-69.
- 2) Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (2006): Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annu. Rev. Plant Biol.* **57**, 781-803.
- 3) 篠崎和子, 柿本真之, 秦峰, 佐久間洋, 圓山恭之進:「トウモロコシ由来のストレス誘導性転写因子」平成 17 年 9 月 16 日特許出願(特願 2005-270970);平成 18 年 3 月 20 日国際出願(PCT/JP2006/306057)