

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：32621

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K15403

研究課題名（和文）植物が記憶する情報を利用した熱ストレス耐性向上のための作物栽培法の確立

研究課題名（英文）Establishment of crop cultivation method for improving heat stress tolerance using information memorized by plants

研究代表者

鈴木 伸洋（Suzuki, Nobuhiro）

上智大学・理工学部・准教授

研究者番号：50735925

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：植物の体の一部のみが熱ストレスにさらされると、植物の体全体にその情報が伝達される（これを長距離シグナルという）。その後、植物の体全体で熱ストレスに対応するメカニズムが活性化される。さらに、植物は過去の熱ストレスを記憶し、後の強い熱ストレスに備える能力も持つ。本研究ではこれらの植物の能力に注目し、植物の熱ストレス耐性を高める方法の確立を試みた。その結果、2枚の葉を熱ストレスにさらした後、通常の条件下で3時間回復させると、植物は強い熱ストレスに対する耐性を獲得できることがわかった。また、強い熱ストレスに対する耐性は、植物の体全体への5分間の熱処理とそれに続く3時間の回復によっても強化された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、地球温暖化に伴う温度上昇による作物収量の低下が報告されており、この影響により食料問題が深刻化する恐れもある。これまで遺伝子組換えにより作物の熱ストレス耐性を向上させる報告が多数あるものの、日本も含め遺伝子組換え作物の栽培に規制がある国での社会への実装は難しい。また、従来の交配に頼る品種改良には長い年月がかかり、地球温暖化が進行するスピードに追いつかない恐れもある。本研究の成果は、植物体の一部分に熱ストレス処理をするだけで熱ストレス耐性が向上することを示した。この知見を利用すれば、簡便な方法により作物の熱ストレス耐性を向上させる有効な技術の開発が可能になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：When only a small part of the plant is exposed to heat stress, this information transfer to the whole plant (we call it long-distance signaling). Then, mechanisms to respond to severe heat stress are activated in whole plant. In addition, plants possess an ability to remember past exposure to heat stress to be better prepared for subsequent severe heat stress. Based on the knowledge associated with these ability of plants, we attempted to establish the way to enhance heat tolerance of plants by using Arabidopsis plants. We found that plants are able to acquire tolerance to severe heat stress by exposure of only two leaves to heat stress followed by recovery under the normal condition for 3 hours. In addition, tolerance to severe heat stress was also enhanced by direct heat exposure of whole plant only for 5 min followed by 3-hour recovery.

研究分野：植物生理学・分子生物学

キーワード：熱ストレス 長距離シグナル 記憶

1. 研究開始当初の背景

自身で動けない植物は、環境の変化に適応するための様々な能力を発達させてきた。そして、農業においては、効率的な作物栽培のため、経験則的にその能力を活かすような方法が確立されてきた。しかし、近年の地球温暖化の急速な進行に伴い、作物の生育に対する熱ストレスの影響がより深刻になっているため、作物の熱ストレス耐性を向上させる、より効果的な技術の開発が求められている。

農業の世界では、弱い刺激や環境ストレスが、作物をより強健にすることが経験則的に知られてきたものの、これは長年の間、理論的な裏付けがない現象であった。しかし、植物科学の基礎研究の世界でも、全身を弱い熱ストレスで処理することにより、致命的な熱ストレスに対する植物の耐性が向上することが証明され、そのメカニズムの一端が明らかにされてきた^[1]。さらに申請者は、モデル植物シロイヌナズナを用いた研究から、植物体の一部に熱ストレスを与えると、そこから植物体全体に長距離シグナルが伝達されることにより、直接熱ストレスを受けていない部位でも熱ストレス耐性が向上することを明らかにした(全身獲得抵抗性: Fig.1)^[2]。これらの結果は、体の一部分で感知した熱ストレスの情報を記憶・伝達することにより、植物はその情報に基づいて熱ストレスに対して適応する能力を持つと考えられる。さらに、植物は、環境ストレスの刺激の情報を秒単位で記憶し、ストレスに適応している可能性も示唆されている^[2, 3]。この原理を利用すれば、植物体の一部に短時間の熱処理を施して、情報を記憶・伝達させることにより全身の熱ストレス耐性を向上させる、効果的かつ簡便な作物の栽培法を確立できる。さらに申請者は、植物体の一部分を熱ストレスで処理した際に、直接熱ストレスを受けていない部位で発現が上昇する遺伝子及びタンパク質もいくつか特定しているため、これらの挙動を詳細に解析することにより、植物が記憶する情報、すなわち植物の熱ストレス耐性を向上させるための有用な情報が得られると考えた。

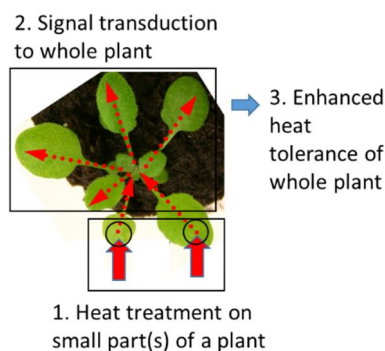


Fig. 1 全身獲得抵抗性のモデル

2. 研究の目的

上述した背景を基に、本研究では、シロイヌナズナを用いて植物体の一部分にのみ熱ストレスを与えた際に植物が記憶する情報を、遺伝子及びタンパク質の発現パターンとして明らかにすると同時に、植物の熱ストレス耐性を最大限に向上させる手法も確立することを目的とした。さらに、シロイヌナズナの解析から得られた知見を基に、実用的な作物の熱ストレス耐性を効果的に向上させる栽培法の確立も試みた。なお、これらの目標を達成するために、本研究では以下の研究項目を設定し、実験を進めた。

- (A) シロイヌナズナが短期的または長期的に記憶する熱ストレス情報の解明
- (B) シロイヌナズナの熱ストレス耐性を向上させるための記憶を利用した手法の確立
- (C) シロイヌナズナの熱ストレス耐性制御における情報の記憶・伝達の重要性の裏付け
- (D) 作物の熱ストレス耐性を効果的に向上させる栽培法の確立

3. 研究の方法

分子生物学的解析

播種後約3週間のシロイヌナズナの本葉1~2枚を40℃の湯に浸漬することにより、秒~分単位(0、20、40及び60秒、並びに5、15、30、45及び60分)の熱ストレスで処理した後、ストレスを受けていないその他の部位におけるストレス応答性遺伝子及びタンパク質の発現を解析した。また、植物の熱記憶のパターンを評価するため、本葉1~2枚を上記の方法で5分または45分の熱ストレスで処理した後、1、3、6、24及び72時間回復させ、遺伝子及びタンパク質発現を解析した。同様のストレス処理を行った植物については、H₂O₂含有量の測定も行った。さらに、播種後3週間程度のシロイヌナズナの植物体全体を熱ストレスで処理する実験も、上記と同様の温度及びタイムコースで行った。

熱ストレス耐性実験

シロイヌナズナ野生型の本葉1~2枚を5分および45分の熱ストレスで処理した後、0、1および3時間回復させた。その後、植物体全体を致命的な熱ストレス(45℃)で処理し、植物体の中で生存した葉の割合を基に全身獲得抵抗性を評価した。

4. 研究成果

(A) シロイヌナズナが短期的または長期的に記憶する熱ストレス情報の解明

本研究ではまず、野生型シロイヌナズナを用いた実験を行った。本葉1~2枚を熱ストレス処理した後、ストレスを受けていないその他の部位におけるストレス応答性遺伝子及びタンパク質

の発現を解析した。HSPs などの遺伝子の多くでは 60 秒以内に明確な発現上昇は見られなかったものの、5 分でわずかに発現が上昇し始め、45 または 60 分で発現量のピークを示した。一方、活性酸素 (ROS) 生成酵素 RBOHD をコードする遺伝子の発現および H₂O₂ 含有量に関しては 20 ~ 40 秒以内に上昇した。RBOHD 依存性の ROS は長距離シグナルの迅速な伝達を制御するために重要であることはすでに示されており^[2]、このことが本研究の結果によっても裏付けられた。さらに、HSP などのタンパク質には 20 秒の熱ストレスにより発現が上昇するものも見られ、遺伝子発現よりも反応が早いという予想外の結果が得られた。

次に、本葉 1~2 枚に 5 分または 45 分の熱ストレスを与え、通常条件下で 1、3、6、24 及び

72 時間回復させた後に、直接ストレスを受けていない部位における遺伝子及びタンパク質発現量を調査した。調査した多くの遺伝子では、45 分の部分的な熱ストレス処理により上昇した遺伝子発現が、回復後 1 時間は維持され 3 時間で急激に減少した (Fig.2) 一方、5 分の熱ストレスを与えた時の発現の上昇がわずかであっても、回復後 1 時間で著しく上昇し、その後低下する遺伝子が多かった (Fig.3)。また、タンパク質発現量は 5 分または 45 分の熱ストレスを与えた場合のいずれにおいても、回復時には上下動を繰り返す傾向が見られた。これらの結果は、植物が長距離シグナルにより伝達された熱ストレスの情報を記憶する能力を有すること、並びに、記憶のパターンが熱ストレスの時間により異なることを示している。

なお、植物体全体を熱ストレスで処理した場合も同様の結果が得られている^[4]。

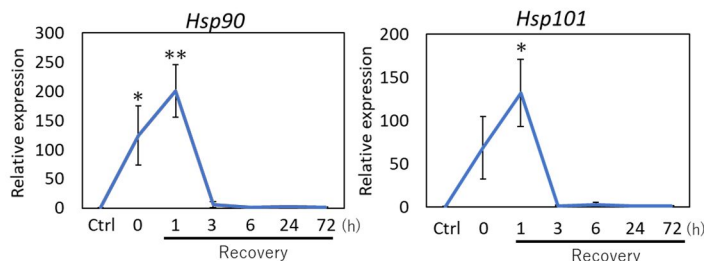


Fig. 2 部分的な熱ストレス (45分) 処理後の回復時における遺伝子発現

** , * : Student's *t*-test P<0.01, 0.05, Compared to Control

回復後 1 時間で著しく上昇し、その後低下する遺伝子が多かった (Fig.3)。また、タンパク質発現量は 5 分または 45 分の熱ストレスを与えた場合のいずれにおいても、回復時には上下動を繰り返す傾向が見られた。これらの結果は、植物が長距離シグナルにより伝達された熱ストレスの情報を記憶する能力を有すること、並びに、記憶のパターンが熱ストレスの時間により異なることを示している。

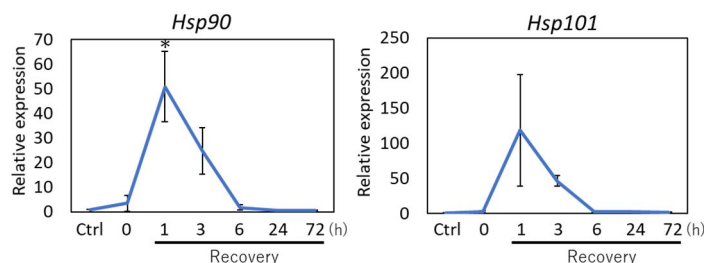


Fig. 3 部分的な熱ストレス (5分) 処理後の回復時における遺伝子発現

* : Student's *t*-test P<0.05, Compared to Control

(B) シロイヌナズナの熱ストレス耐性を向上させるための記憶を利用した手法の確立

上述した結果を基に、5 分または 45 分の熱ストレスで本葉 1~2 枚を処理し、1 または 3 時間回復させた後、植物体全体に致死的な熱ストレスを与え、全身獲得抵抗性を評価した。その結果、45 分の熱ストレスで処理した場合に、植物体全体の熱ストレスが効果的に向上した。さらに、1 時間の回復に比べ、3 時間の回復の方がより効果的に熱ストレス耐性を向上させることもわかった (Fig.4)。熱ストレス処理後に 3 時間回復させた場合、遺伝子発現量は急激に減少するため (Fig.2) この結果は予想外のものといえる。このことは熱ストレス処理後の回復により、記憶の一部をリセットすることが熱ストレス耐性の獲得に重要であることを示している。

本研究では、植物体全体に 5 分の熱ストレスを与えた後に 1 または 3 時間回復させた場合の致死的な熱ストレスに対する耐性も調査したところ、3 時間回復させるとより高い効果が見られた^[4]。

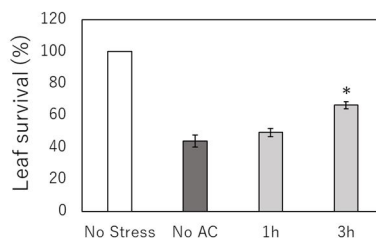


Fig. 4 部分的な熱ストレス (45分) 処理が植物体全体の熱ストレス耐性に与える影響。植物体の中で葉が生きている割合により評価した。

* : Student's *t*-test P<0.05, Compared to No AC

(C) シロイヌナズナの熱ストレス耐性制御における情報の記憶・伝達の重要性の裏付け

遺伝子発現解析 (上記 A) の結果、転写因子 bZIP28 をコードする遺伝子の発現は植物体的一部分への 45 分の熱ストレス処理後に上昇し、回復時に徐々に減少するものの、72 時間後に再度上昇する傾向が見られた。この結果は、bZIP28 が長期的な記憶の制御に関与することを示している。本研究では、bZIP28 を欠損したシロイヌナズナ変異体 (*bzip28*) を用いて、部分的な熱スト

レスを与えた際の直接ストレスを受けていない部位の遺伝子発現、並びに熱ストレス耐性の評価を行った。その結果、野生型と比較して *bzip28* では熱ストレス処理により上昇した遺伝子発現がより長い時間維持される傾向が見られた。また、熱ストレス処理後に3時間回復させた場合の熱ストレス耐性が野生型よりも強いこともわかった。この結果は bZIP28 が長距離シグナルにより伝達された熱ストレス情報の記憶の制御におけるネガティブレギュレーターである可能性を示している。

(D) 作物の熱ストレス耐性を効果的に向上させる栽培法の確立

本研究では、トマト（マイクロトム）の第一葉を45分の熱ストレスで処理し、1または3時間回復させた後の熱ストレス耐性を評価したものの、明確な耐性向上は見られなかった。熱ストレス耐性の獲得に必要な処理条件は、植物の種により異なる可能性がある。しかし、2020年度のコロナウィルスの影響により、作物を用いた実験を予定通りに進められなかった。そのため、作物を用いた実験は現在も継続中である。

引用文献

- [1] Suzuki et al., (2005) *Physiol Plant*, 126: 45-51
- [2] Suzuki et al., (2013) *Plant Cell*, 25: 3553-3569
- [3] Suzuki et al., (2015) *Plant J*, 84: 760-772
- [4] Oyoshi et al., (2020) *Plant Signal Behav*, 15: 1778919

本研究に関する発表

<原著論文>

Oyoshi K, Katano K, Yunose M, Suzuki N (2020) Memory of 5-min heat stress in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Signal Behav*, 15: 1778919

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Oyoshi K, Katano K, Yunose M, Suzuki N.	4. 巻 15
2. 論文標題 Memory of 5-min heat stress in Arabidopsis thaliana.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Signaling & Behavior	6. 最初と最後の頁 1778919-1778924
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/15592324.2020.1778919.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大吉浩平, 鈴木伸洋
2. 発表標題 植物の短時間熱記憶の解析
3. 学会等名 第134回 日本育種学会講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平田明日香, 鈴木伸洋
2. 発表標題 植物の熱ストレス応答性長距離シグナルの詳細な挙動解析
3. 学会等名 第134回 日本育種学会講演会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------