

機関番号：11201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21780001

研究課題名（和文）植物の開花・ストレス応答経路のクロストーク解明と育種への応用

研究課題名（英文） Molecular basis of crosstalk between flowering and environmental stress signaling pathway and application for plant breeding.

研究代表者

横井 修司（SHUJI YOKOI）

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：80346311

研究成果の概要（和文）：

ストレス耐性に機能する遺伝子の遺伝子発現のリズムが、塩処理によって乱されるが、開花遺伝子である*GI*の機能によってそれが補正され、一定のリズムを維持することで塩耐性に機能していることを明らかにした。この成果により、開花関連遺伝子がストレス耐性遺伝子の発現制御に機能していることを明らかにすることが出来た。

研究成果の概要（英文）：

We indicated that *GI* mediates the sodium stress response via induction in gene expression of stress-related genes as a result of circadian clock regulation. We also found that *GI* suppresses the newly identified stress-induced-flowering pathway.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：育種学、遺伝学、植物、ストレス、シグナル伝達

## 1. 研究開始当初の背景

植物の開花は種子（子孫）を残すためのもっとも重要な生存戦略であり、食料・加工用として利用する人類にとっても非常に重要な農業形質である。植物はストレスのない条件下では、体内時計と外界からのシグナル（日長・温度など）を統合して季節（開花のために最適な時期）を判断して花

を咲かせるための準備を開始する。この準備段階は、「相転移」と呼ばれ、個体の成長を維持するための時期（幼若栄養生長期：個体の生長維持の期間であり、外界シグナルに反応しない）から外界シグナルを受容できるようになる時期（成熟栄養生長期：環境条件が整えばいつでも次の相に移行できる）へと移行する。環境条件が整えば、植物は子孫を残すための時期（生殖生長

相：種子をつけるための時期で不可逆的な相)へと移行し、種子を作る。一方、植物は幼若成長期でも劣悪な環境条件(病原菌・乾燥・塩・高温・低温など)にさらされると緊急的に相転移を行い、子孫を残すために種子を作る。例えば、西洋ナタネは降雨量の少ない乾燥した年に栽培すると降雨量の多い年に栽培した時よりも開花が早くなること、シロイヌナズナは栄養分が不足すると開花が早まることなどが知られている。上記のように、通常の植物の開花経路と環境条件の悪化による緊急的な開花の経路が開花促進現象に統合されると幾つかの例で知られているが、その分子レベルでのクロストークに関しては世界的にも研究がなされておらず、未知な部分が多い。

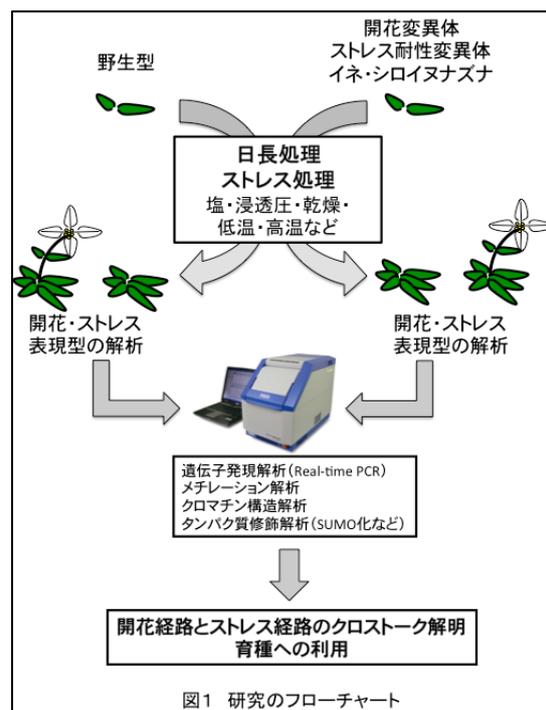
## 2. 研究の目的

開花とストレスのシグナル伝達経路のクロストークを分子レベルで解明する。このことにより、環境ストレスと開花という研究上では異なる経路を統合するという生物学的に基礎となる重要な知見が得られるとともに、環境ストレスを回避して十分な作物生産量を確保する農業・育種の戦略へと応用することが可能となる。

## 3. 研究の方法

植物の非ストレス条件下での相転移の分子メカニズムは、シロイヌナズナやイネなどのモデル植物を用いて研究が行われており、シロイヌナズナでは低温要求(春化处理)、自律的、光周性、ジベレリンの4つの経路が既知の経路として明らかになっている。これら4つの経路に関与する遺伝子が多数単離解析されており、非ストレス経路の開花経路は分子レベルで明らかにされつつある。図1に示すように、本研究では、イネ・シロイヌナズナのこれらの経路に関わる遺伝子の機能欠失変異体やストレス耐性変異体を用い、これらの変異体に様々な日長処理(短日・長日・恒日など)や様々なストレス処理(乾燥、塩、浸透圧、低温、高温)を施し、開花・ストレス耐性の表現型解析と開花・ストレス関連遺伝子の発現解析を行う。表現型が変化することが明らかになれば、開花の経路とストレスの経路にクロストークが存在することが明らかとなり、それぞれの関連遺伝子の発現解析から、分子レベルでのシグナル伝達が分子遺伝学的に明らかになることが期待される。申請者はシロイヌナズナ開花関連遺伝

子の一つである *GIGANTEA* の変異体 (*gi-3*) に塩処理を行い、*gi-3* 変異体が塩処理に高感受性を示すことを既に明らかにしている。さらに、タンパク質修飾(SUMO化など)からのシグナル伝達経路に関与する *AtSIZ1* がストレスと開花の表現型に関与していることも明らかになっており、このストレス耐性とSUMO化に寄与する遺伝子である *AtSIZ1* のターゲット遺伝子である *ICE1* の機能を開花とストレスの経路のクロストークに大きく関与する遺伝子と位置づけ、イネを中心に *ICE1* の機能解析を行う。さらに、開花やストレス耐性の分子メカニズムにはクロマチン構造や遺伝子のメチレーションも関与していることが考えられ、それぞれの経路に関与する遺伝子発現をエピジェネシスの面からも注目して解析を行っていく。上記の研究から、開花・ストレス耐性の分子メカニズムのクロストークを明らかにし、それら知見をストレス耐性作物育種から食糧増産へと応用することを目指す。



## 4. 研究成果

*gi-3* に対し NaCl による塩ストレス処理を施し、ストレス耐性に関与する遺伝子の発現解析、植物体内での Na 含量の測定を行う事で、GI の塩ストレス下における機能を推定した。また塩ストレス後の開花の表現型の観察、及び開花関連遺伝子の発現解析を行う事で、

塩ストレス下での開花生理と、塩ストレス下での開花生理におけるGIの機能を推定した。

その結果、*gi-3*変異体は塩ストレスに対して、著しい感受性を示す事が明らかとなった。また、塩ストレス処理後のNaの含量を測定したところ、*gi-3*は野生型と比較して、地下部で特異的にNa含量が低い事が明らかとなった。この事を受け、Na蓄積を制御し、液胞膜局在のNa<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>アンチポータータンパク質をコードする*NHX*遺伝子の発現解析を行った結果、*gi-3*において複数の*NHX*遺伝子の発現低下が見られた。この事から、GIは液胞膜へのNa蓄積を制御する事で、塩ストレス耐性を促進する事が示唆された。

また塩ストレス処理後の抽苔までの日数(抽苔期)及び、抽苔時のロゼットの枚数(葉の枚数)を計測したところ、野生型では塩ストレス処理により、抽苔期が遅くなり、葉の枚数は変化しない事が明らかとなり、*FT*の発現も減少していた。一方で*gi-3*においては、塩ストレス処理により抽苔期が若干早化し、葉の枚数は減少していた。これらの事からGIは塩ストレス条件下において、栄養生長の長さを正常に保つために不可欠である事が示唆された。

*GI*との関連が疑われた*Arabidopsis thaliana*のストレス関連遺伝子変異体を長日条件下で栽培し、抽だい時の葉数と抽だいまでの日数を計測した。その結果、塩ストレスによって発現が誘導される転写因子の変異体*anac055*において抽だい時の葉数と日数の遅延が見られた。(図1-A, B) *anac055*が開花に関与している事が示唆された。

また、*Arabidopsis thaliana*の開花遺伝子変異体*gi-3*とそのWTである*Ler*を発芽後15日目から3日間培地で塩処理し、4時間おきに92時間にわたってseedlingをサンプリングした。ストレス応答性遺伝子について発現解析をリアルタイムPCRにより行った。その結果、*gi-3*の塩処理区において塩添加培地からMS培地に戻した時、WTでは見られなかった*ANAC055*発現増加が確認された。*ANAC055*は特定の条件下において*GI*による発現抑制をうけているか可能性が示唆された。(図2)

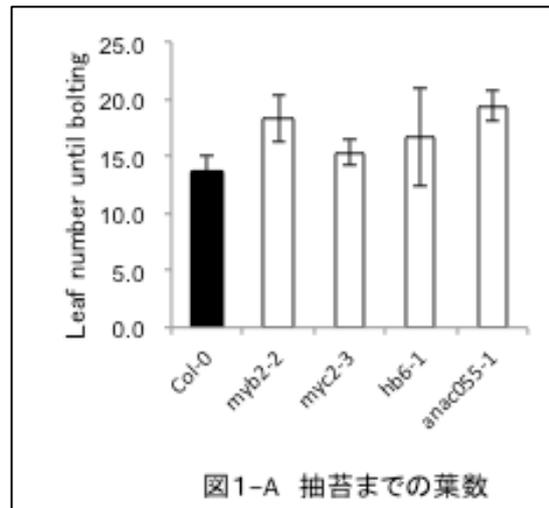


図1-A 抽苔までの葉数

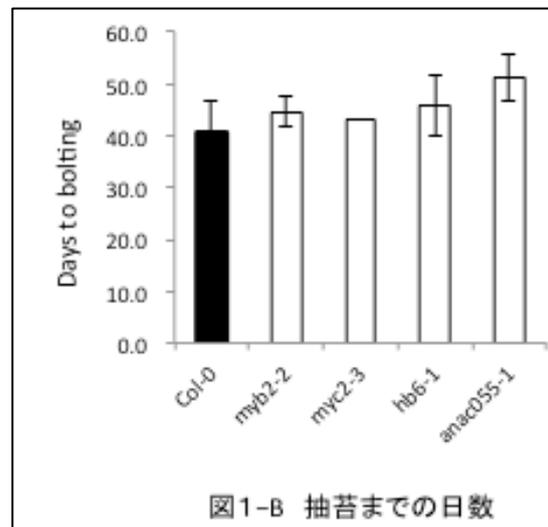


図1-B 抽苔までの日数

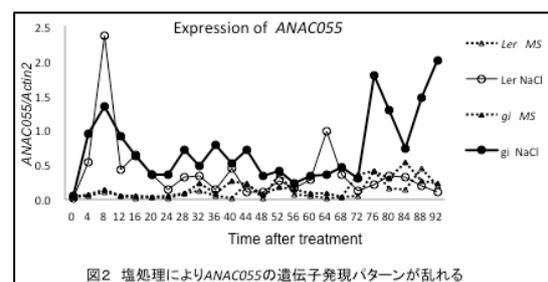


図2 塩処理によりANAC055の遺伝子発現パターンが乱れる

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Ishikawa R, Aoki M, Kurotani K-I, Yokoi S, Shinomura T, Takano M and Shimamoto K (2011) Phytochrome B regulates *Heading date 1 (Hd1)*-mediated expression of rice florigen Hd3a and critical day length in rice. *Molecular Genetic and Genomics* 査読有 (*in press: on line first*)
- ② Komiya R, Yokoi S and Shimamoto K (2009) A gene network for long day flowering activates RFT1 encoding a mobile flowering signal in rice. *Development* 査読有 136: 3443-3450

[学会発表] (計4件)

- ① Kitamoto N, Yui S, Takahata Y and Yokoi S (2010) Expression analysis of genes for flowering in a late bolting breeding material, “leafy green parental line No.2 (*Brassica rapa*)” that requires long days instead of vernalization for flowering. 17th Crucifer Genetics Workshop (Brassica 2010), Saskatoon, Canada (September 5-9)
- ② Kubo T, Takahata Y and Yokoi S (2010) Crosstalk between photoperiodic flowering and stress signaling mediated by *GIGANTEA (GI)* in *Arabidopsis*. 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, Japan (June 6-10)
- ③ 久保 隆洋・河合 成直・高畑 義人・横井修司 (2010) 塩ストレス下におけるシロイヌナズナ開花関連遺伝子変異体の生理学的解析 第117回日本育種学会 京都大学 2010年3月26日～27日
- ④ Kubo T, Takahata Y and Yokoi S (2009) Role of *GIGANTEA* gene in the regulation of salt stress signaling in *Arabidopsis*. Plant Biology 2009, Hawaii Convention Center, Honolulu Hawaii USA (July 18 - 22)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横井修司 (SHUJI YOKOI)  
岩手大学・農学部・准教授  
研究者番号：80346311