

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：22701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26650103

研究課題名(和文)ユリのリンカーヒストン遺伝子を活用した耐乾性植物の開発

研究課題名(英文)Production of drought-tolerant plants by use of a lily linker histone

研究代表者

田中 一郎(Tanaka, Ichiro)

横浜市立大学・生命ナノシステム科学研究科(八景キャンパス)・教授

研究者番号：60175445

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、植物の乾燥ストレスへの関与が示唆されているクロマチンの主要成分であるリンカーヒストンH1の機能を探るとともに、その機能を活用した耐乾性植物の開発を目指して、テッポウユリから独自に見出したリンカーヒストンH1の変種をタバコ、シロイヌナズナ、イネに導入し、耐乾性付与効果を調査した。

その結果、いずれの形質転換体も同時に導入したGFPシグナルが体細胞核から得られたものの、有意な耐乾性獲得が認められたのは、タバコのみで、かつその効果は一代限りであることが多かった。GFPシグナルは継続して得られているので、その耐乾性付与効果についてはエピジェネティックな制御の可能性も考えられた。

研究成果の概要(英文)：H1 histone, as a major structural protein, of higher-order chromatin, is associated with stress responses in plants. So, in order to clarify the functions of a lily H1 histone gene, transgenic tobacco, transgenic Arabidopsis thaliana, transgenic rice were produced. As a result, although the induction and expression of the lily linker histone gene, its overexpression did not improve the tolerance to various abiotic stresses including desiccation.

研究分野：基礎生物学

キーワード：遺伝子 環境 植物 ストレス バイオテクノロジー

1. 研究開始当初の背景

ヒストンは、真核生物の細胞核クロマチンを構成する主要タンパク質で、基本的な5種類(ヒストン H1, H2A, H2B, H3, H4)が存在する。このうち、コアヒストンの H2A, H2B, H3, H4 は生物種を超えてよく類似しており、特に H3 と H4 は高度に保存されている。それに対して、リンカーヒストンの H1 は種間での変異が大きい。また、H4 を除く4種類はそれぞれ同一種でも複数の分子種を含んでおり、特に H1 にその数が多い。リンカーヒストンの H1 は、ヌクレオソームのリンカーDNA に結合することによって6個のヌクレオソームを会合させソレノイド構造を形成させることから、クロマチンの高次構造、ひいては遺伝子発現の制御に重要な因子と考えられている。通常はヒストン H1 の主たる分子種が大部分を占め、残りの分子種(変種)の占める割合は低いが、変種の構成が組織間で変動することから、変種がクロマチンの構造や細胞分化と深く関わっていると推察されている。6種類のヒストン H1 変種の存在が知られているタバコでは、その変種の構成を改変した形質転換タバコにおいて、花粉形成(減数分裂)の障害が示されており、ヒストン H1 変種の機能上の重要性も示唆されている。一方、シロイヌナズナやトマトでは、乾燥ストレスによって発現誘導されるヒストン H1 変種が知られている。これらのヒストン H1 変種は、乾燥ストレスに応答した植物ホルモン(ABA)や転写因子を介する遺伝子発現制御に関わると推察されているが、その機能の詳細は不明である。そして、乾燥ストレスに応答する遺伝子発現制御では、ヒストン自体よりもヒストンの修飾変化(エピジェネティック制御)の方が現在重要視されている。

当研究室(横浜市立大学植物細胞遺伝学研究室)では、テッポウユリにおいて、強い乾燥耐性を有する花粉の、さらに高度なクロマチン凝縮がみられる雄性配偶子核(雄原核)から、これまで3種類の雄性配偶子(gamete)特異的ヒストン変種(gH2A, gH2B, gH3)を植物で初めて見出した(Ueda & Tanaka, Dev. Biol., 1995)とともに、特異的ではないが、雄性配偶子核に極めて多量に蓄積しているヒストン H1 の変種(gH1)も見出して(Tanak, et. al., Chromosoma, 1999)。これらのヒストン変種の機能解析のために、形質転換体の作成が困難なテッポウユリに代わって、形質転換タバコを作成したところ、植物体の生育や稔性にほとんど影響を与えなかったが、葉における顕著な乾燥耐性の付与が最近になって認められた(未発表)。

2. 研究の目的

本申請研究では、タバコにおける乾燥耐性付与がテッポウユリのヒストン H1 変種(gH1)に特異的か、乾燥耐性が付与された

形質転換タバコの性状、乾燥以外の環境ストレスへの関与などを明らかにするとともに、応用面での画期的成果を期待して、テッポウユリのヒストン H1 変種 遺伝子を導入したタバコ以外の形質転換植物を作成する。

現在の予備的成果が、他の植物、特に穀物類に拡大された場合の影響は多大であり、その成果は計り知れない。そのため残された3年間の研究機関のすべてを本申請研究に当て、これまでのヒストン研究の集大成としたい。

3. 研究の方法

すでに作成済みの3種類の形質転換タバコ(ユリのリンカーヒストン H1 変種 gH1、gH1 と GFP、ユリの別のヒストン H1 変種 mH1 をそれぞれタバコに遺伝子導入したものを)を用いて、各種環境ストレス(乾燥、塩、浸透圧、高温、低温など)に対する耐性を野生株と比較する。有意な耐性付与が認められたもの(gH1 の葉における耐乾性付与は確認済みである)については、導入遺伝子の発現量や発現組織を解析することにより、原因遺伝子を特定する。また、耐性獲得に至る生理学的・形態学的変化についても明らかにする。続いて、有効なユリのリンカーヒストン H1 遺伝子をタバコ以外のモデル植物であるシロイヌナズナやイネに導入し、その効果の普遍性を検証する。

具体的には、

乾燥耐性付与の原因遺伝子の特定

最近、テッポウユリの雄性配偶子核から見出したリンカーヒストン H1 変種の一つ(gH1)をアグロバクテリウム法によってレポーター遺伝子の GFP とともにタバコに遺伝子導入した形質転換タバコの F1 種子を育て、葉の乾燥耐性を野生株と比較したところ、顕著な耐乾性の向上が認められた。この形質転換タバコでは、GFPのシグナルが葉のみならず根や茎でも細胞核に局在していることから、ユリのリンカーヒストン H1 はタバコのクロマチン成分として使用されて耐乾性を付与したと仮定される。そこで、GFP を含まないユリのリンカーヒストン変種のみ、あるいはユリの別のリンカーヒストン変種で形質転換した葉の乾燥耐性を調査することによって、この葉への乾燥耐性付与の原因遺伝子を特定する。

他の環境ストレス耐性への影響

葉における乾燥耐性付与が認められた形質転換タバコを用いて、乾燥以外の環境ストレス(塩、浸透圧、高温、低温など)に対する耐性を調査する。同時に、葉以外の根や茎での耐性付与の有無を調査し、現在の知見が乾燥耐性特異的であるか、葉特異的であるかを明らかにする。

環境ストレス耐性獲得機構の解析

シロイヌナズナやトマトでは、乾燥ストレスによって発現誘導されるヒストン H1 の変種 (H1S1-3, H1S1-S) が知られているが、この形質転換タバコでは、ユリのヒストン H1 変種は常に発現しクロマチン成分の一部になっている。そこで、ヒストン H1 変種の発現量と環境ストレス耐性度との関係を個体間や組織間で比較することによって、耐性獲得へのヒストン H1 変種の直接的関与を明確にする。また、トマトでは、H1S1-S の発現を抑制した形質転換体において、気孔の機能に変化が認められていることから、形質転換タバコと野生株の形態学的・生理学的差異を詳細に調査し、耐性獲得に至る二次的要因を明らかにする。

モデル植物や穀物への適用

タバコで得られた知見がタバコ以外の植物にも適用できるかどうかをモデル植物のシロイヌナズナや主要穀物のイネで検定する。穀物類の形質転換の経験はないので、その作成は業者に依頼する。

4. 研究成果

いずれの形質転換体も同時に導入した GFP の強いシグナルが得られ、導入したテッポウユリのリンカーヒストン H1 がタバコ、シロイヌナズナ、イネのクロマチン成分として使用されていることが確認された。しかしながら、形質転換シロイヌナズナや形質転換イネにおいては、有意な乾燥耐性獲得は認められなかった。他のストレス耐性についても同様で、テッポウユリのリンカーヒストン H1 は他種の植物においては何の影響も無いと判断された。一方、形質転換タバコにおいては、形質転換体ごとに大きな違いがあり、シロイヌナズナやイネと同様まったく影響の認められない場合と明らかに乾燥耐性が付与される場合があった。ところが、強い乾燥耐性が付与された個体においても、その後代ではそれが消失する場合もあった。その原因は不明であるが、エピジェネティックな制御が関与する可能性も考えられた。

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 1 件)

田中一郎：花粉の科学、横浜市立大学論叢自然科学系列、査読無、65: 11-23, 2017

〔学会発表〕(計 5 件)

Ueda K, Yamanami S, Hiratsuka R, Sato-Nagasawa N, Tanaka I, Akagi H, Wabiko H: An L-arabinokinase CAP1 is required for pollen development in rice, 14th International Symposium on Rice Functional Genomics, 2016.9.26 ~9.29, Le Corum, Montpellier, France

上田健治、山波佐祐里、平塚理恵、佐藤(永澤)奈美子、田中一郎、赤木宏守、我彦広悦：イネの花粉形成に必須な L-アラビノキナーゼ CAP1 の解析、日本植物学会第 80 回大会、2016 年 9 月 17 日、沖縄コンベンションセンター(沖縄市宜野湾市)

田中一郎、諏訪互、上田健治：テッポウユリの雄性配偶子形成過程におけるクロマチンの変遷について、染色体学会第 65 回大会、2014 年 10 月 24 日、倉敷芸文館(岡山市倉敷市)

上田健治、萩野友里、吉岡聡、森稔幸、田中一郎、我彦広悦：ユリの雄原細胞分化に関わる因子の探索、日本植物学会第 78 回大会、2014 年 9 月 12 日、明治大学(神奈川県川崎市)

諏訪互、吉川裕也、上田健治、田中一郎：テッポウユリ精細胞核の二型性について、日本植物形態学会第 26 回大会、2014 年 9 月 11 日、明治大学(神奈川県川崎市)

〔図書〕(計 1 件)

Tanaka I et al.: Atlas of Plant Cell Structure, Springer, 2014, 202p

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 一郎 (TANAKA ICHIRO)
横浜市立大学・大学院生命ナノシステム科学研究科・教授
研究者番号：60175445

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()