

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19198

研究課題名（和文）冷害に強い作物を作出するための新規技術基盤の開発

研究課題名（英文）Attempt to produce

研究代表者

経塚 淳子（Kyojuka, Junko）

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：90273838

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：冷害の克服は重大な課題でありこれまでにさまざまな努力が続けられてきた。また、冷害が起こるメカニズム解明に向けた基礎研究が重ねられてきたがその知見は断片的であり、冷害を克服するための理論基盤として利用するには至っていない。本研究では、細胞周期を抑制する植物特異的サイクリン依存性キナーゼ（CDK）抑制因子EL2、EL2-LIKEに着目し、これらが低温での稔性低下に関与する可能性を検討した。その結果、これら遺伝子が不良環境耐性にかかわるABAによる誘導を受け、細胞分裂が抑制される器官で強く発現することを見出した。また、変異体では低温による稔性低下が起こる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

地球規模の気候変動は今後も繰り返されることが予想されており、深刻な冷害が起こる可能性が懸念される。本研究は、冷害に対して新たな切り口で取り組むものであり、芽生え期の研究ではあるが、将来性の高い挑戦的研究である。ここで得られる知見は、他のイネ科作物にも応用可能であり、また、冷害以外の不良環境にも応用できると期待される。

研究成果の概要（英文）：Overcoming damage from cold whether has been an important issue, and various efforts have been made so far. Although basic research has been conducted to elucidate the mechanism of chilling injury, the knowledge is fragmentary and has not yet been used as a theoretical basis for overcoming chilling injury. In this study, we focused on the plant-specific cyclin-dependent kinase (CDK) repressors EL2 and EL2-LIKE, which suppress the cell cycle, and examined the possibility that these genes are involved in the reduction of fertility at cold whether. We found that these genes are strongly expressed in organs where cell division is suppressed, and induced by ABA, which is related to tolerance to environmental stresses. We also found that the loss of function of these genes causes low fertility at cold whether.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：イネ 冷害 植物特異的CDKインヒビター EL2 ABA

1. 研究開始当初の背景

(1) 北日本の稲作にとって寒さは大きなストレスである。冷害の克服は重大な課題であり、寒さに強いイネの育種、冷害を避けるための栽培管理法の開発など、さまざまな努力が続けられてきた。また、冷害が起こるメカニズム解明に向けた基礎研究では、花粉稔性の低下が冷害の原因であることや、植物ホルモンが関与することなどが報告されているが、その知見は断片的であり、冷害を克服するための理論基盤として利用するには至っていない。要するに、「低温にさらされるとなぜコメが実らないのか」はいまだに分かっていないのである。低温環境下での稔性の低下、すなわち収量の減少は、イネだけではなく、種子を収穫する作物に共通する問題でもある。

(2) 細胞周期の調節はすべての生物の生存に不可欠である。細胞周期では、サイクリン(CYC)とサイクリン依存型リン酸化酵素(CDK)複合体(CYC/CDK)が周期を進行させ、CDK抑制因子がCDK活性を抑制する。これにより細胞周期が適切に調整される。植物は、すべての生物に共通なものと植物特異的な2種類のCDK抑制因子をもつ(Churchmanら2006)。これまで、植物特異的CDK抑制因子が細胞の倍数化(endoreduplication)や病原菌応答に関与することが報告されている(Liら2015)。その機能は未だに不明な点が多い。イネには、植物特異的CDK抑制因子ホモログが6遺伝子存在する(Kumarら2015)。これらのうち、主に機能しているのはEL2とEL2-likeの2遺伝子であり、タンパク質としての機能は他植物と共通である。実施者はEL2とEL2-like遺伝子の機能が失われた*el2 el2-like*二重変異体は、外見上は正常であり、成育に適した条件では正常に稔実するが、低温下で稔性が大きく低下するというユニークな現象を見出した。EL2とEL2-like遺伝子の発現が低温により誘導されることはすでに報告されている(Peresら2007)。本研究では、EL2とEL2-like遺伝子が、低温環境下での稔性の維持に必須である、低温により発現誘導される、植物に特異的な細胞周期抑制因子であるということと、冷害では花粉の減数分裂が影響を受けるという知見



図1. EL2、EL2like 遺伝子発現の低温反応性と種子稔性の維持

を総合し、低温に遭遇するとEL2とEL2-like遺伝子の発現が誘導され、その結果として種子稔性の低下を防ぐという低温防御システムがイネに備わっているという仮説を考えた。すなわち、EL2、EL2-like遺伝子は低温というインプットと稔性低下の阻止というアウトプットをつなぐ鍵であり、EL2とEL2-likeの機能や制御を明らかにすることにより、イネの低温防御機構を理解し、その知見を利用して冷害に強いイネを作ることができると考えた(図1)。

2. 研究の目的

本研究は、冷害に強い作物を作出するための新規技術基盤の開発を目的とする。本研究では、植物に特異的な細胞周期抑制因子であるEL2とEL2-like遺伝子が、低温などの不良環境下において稔性を維持する上で必須の遺伝子であることを証明する。さらに、EL2、EL2-like遺伝子の低温応答メカニズムおよびEL2、EL2-likeタンパク質の機能を明らかにし、その知見を利用して冷害に強いイネの作出を試みる。

3. 研究の方法

(1) *EL2*、*EL2-like* 遺伝子の低温応答メカニズムの解析

EL2、*EL2-like* の制御領域で *EL2*、*EL2-like* と GFP の融合タンパク質を発現させるコンストラクトをイネに導入する。*EL2*、*EL2-like* タンパク質発現の時期、組織特異性を調べる。

(2) *EL2*、*EL2-like* の機能解析

インキュベーターを用いて、*el2 el2-like* 二重変異体および野生型植物をさまざまな温度環境下で育成し、表現型（種子稔性）を調べる。これにより、*EL2*、*EL2-like* が低温に対する応答に関与する可能性を検討する。また、機能を発揮する温度条件（温度、継続時間など）や成育時期を明らかにする。

4. 研究成果

(1) *EL2* および *EL2-like* 遺伝子の発現が植物ホルモン

ABA による誘導を受けることが明らかになった(図2)。ABA は低温や乾燥などのストレスを伝えるホルモンであることから、*EL2* および *EL2-like* は不良環境で働く遺伝子であると考えられる。*EL2* および *EL2-like* タンパク質を GFP で可視化することにより、腋芽が細胞分裂を停止して休眠する際に *EL2* および *EL2-like* タンパク質の量が増加することが明らかになった(図3)。したがって、低温で *EL2* および *EL2-like* の発現が上昇し細胞分裂が停止するという可能性が考えられる。

(2) *el2*、*el2-like* および二重変異体では、穂形成時の低温処理（通常条件 昼 28°C/夜 24°C；低温条件 昼 24°C/夜 20°C）による稔性の影響を強く受けることを明らかにできた(図4)。また、これはどちらか一方の遺伝子の機能が低下しただけで野生型よりも強く稔性が影響されることが分かった。

<引用文献>

- Churchman ML ら(2006) SIAMESE, a plant-specific cell cycle regulator, controls endoreplication onset in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*. 2006 18:3145-57.
- Kumar N ら(2015) Functional Conservation in the SIAMESE-RELATED Family of Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors in Land Plants. *Plant Cell*. 27:3065-80.
- Li A ら(2015) The inhibition of activated hepatic stellate cells proliferation by arctigenin through G0/G1 phase cell cycle arrest: persistent p27(Kip1) induction by interfering with PI3K/Akt/FOXO3a signaling pathway. *Eur J Pharmacol*. 15;747:71-87.
- Peres A ら(2007) Novel plant-specific cyclin-dependent kinase inhibitors induced by biotic and abiotic stresses. *J Biol Chem*. 2007 31;282:25588-96.

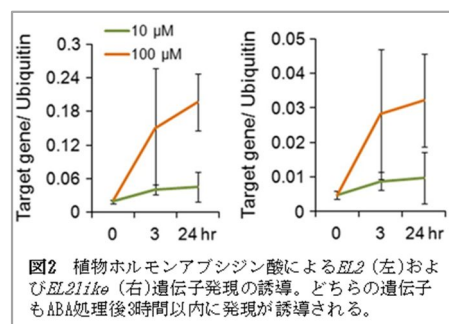


図2 植物ホルモンアブシジン酸による*EL2* (左)および*EL2like* (右)遺伝子発現の誘導。どちらの遺伝子もABA処理後24時間以内に発現が誘導される。

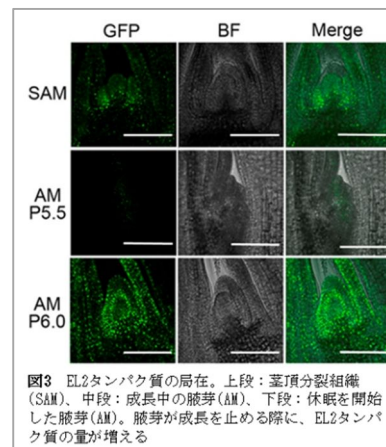


図3 *EL2*タンパク質の局在。上段：茎頂分裂組織(SAM)、中段：成長中の腋芽(AM)、下段：休眠を開始した腋芽(AM)。腋芽が成長を止める際に、*EL2*タンパク質の量が増える

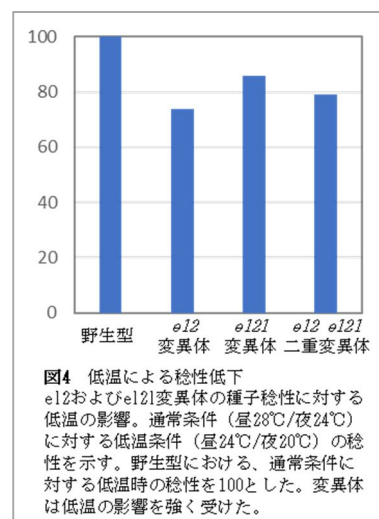


図4 低温による稔性低下
*el2*および*el21*変異体の種子稔性に対する低温の影響。通常条件(昼28°C/夜24°C)に対する低温条件(昼24°C/夜20°C)の稔性を示す。野生型における、通常条件に対する低温時の稔性を100とした。変異体は低温の影響を強く受けた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Toriba Taiyo, Tokunaga Hiroki, Nagasawa Kazuma, Nie Fanyu, Yoshida Akiko, Kyojuka Junko	4. 巻 30
2. 論文標題 Suppression of Leaf Blade Development by BLADE-ON-PETIOLE Orthologs Is a Common Strategy for Underground Rhizome Growth	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 509 ~ 516.e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2019.11.055	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Luo Le, Takahashi Megumu, Kameoka Hiromu, Qin Ruyi, Shiga Toshihide, Kanno Yuri, Seo Mitsunori, Ito Masaki, Xu Guohua, Kyojuka Junko	4. 巻 97
2. 論文標題 Developmental analysis of the early steps in strigolactone mediated axillary bud dormancy in rice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 1006 ~ 1021
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.14266	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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		
中国	南京農業大学		