

平成22年5月19日現在

研究種目： 基盤研究（B）
研究期間： 2007～2010
課題番号： 19380015
研究課題名（和文）ダイズ生育初期の湿害発生時におけるタンパク質群による制御機構解明
研究課題名（英文）Clarification of controlling mechanism by proteins in soybean under flooding stress

研究代表者

小松 節子（KOMATSU SETSUKO）

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究所大豆生理研究チーム・チーム長

研究者番号：90355751

研究代表者の専門分野：農学

科研費の分科・細目：農学 作物学・雑草学

キーワード：ダイズ、根系、湿害、ネットワーク、プロテオーム

1. 研究計画の概要

ダイズ生育初期における湿害発生機構を、未知の湿害発生機構も視野に入れて、タンパク質レベルから包括的に解析し、タンパク質間相互作用解析により湿害発生ネットワークを明らかにする。そのために、ダイズの初期生育時において湿害発生により変動するタンパク質群を包括的に解析する。さらに、突然変異ダイズを用いて冠水抵抗性を指標として選抜し、検出されたタンパク質あるいは遺伝子の発現を解析する。このことより、ダイズの出芽期の湿害発生機構を明らかにする。将来的にダイズの湿害を回避することにつながり、生産性の安定・向上に貢献する。

2. 研究の進捗状況

(1) 包括的手法としてプロテオーム解析技術を用いて、出芽期の冠水ストレスで変動するタンパク質群を解析した。多くのタンパク質群が増加あるいは減少していることを明らかにし、顕著に変動するアスコルビン酸ペルオキシダーゼは冠水時にタンパク質および遺伝子レベルで減少することを明らかにした。

(2) アスコルビン酸ペルオキシダーゼをコムギの無細胞系を用いて発現させ抗体を調整し、経時的・器官特異的な発現を解析した結果、ダイズの出芽期に増加し、冠水ストレスで減少することを明らかにした。さらに、*in situ* ハイブリダイゼーションにより、分裂の激しい組織で発現し、冠水ストレスで顕著に減少することを明らかにした。

(3) タンパク質の相互作用を検討するために、細胞膜および細胞壁に関与するタンパク質群を解析した。出芽期の冠水ストレスによ

り、病害・防御反応、およびタンパク質合成およびタンパク質修復を、タンパク質リン酸化を介して制御していること、特に細胞壁においては、リグニン合成やリグニン化を抑制していることを明らかにした。

(3) 耐湿性品種は選抜されていないことより、重イオンビーム・炭素イオンをダイズに照射し（理研との共同研究）突然変異ダイズを作出した。発芽試験および生長試験を行い、発芽率の影響を与えないが、その後の生長量を半減する照射量として100Gyを選択し、種子を増殖してM2種子を採取することにより、耐湿性研究の素材を開発した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

理由：ダイズの出芽期における冠水ストレスに関与するタンパク質群を明らかにし、その相互関係が明らかになりつつあり、その成果は学会報告と同時に論文として報告した。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 突然変異ダイズを用いて出芽期の冠水抵抗性示すダイズを選抜し、機能解明実験に用いる。

(2) 湿害時に誘導されたタンパク質の抗体や遺伝子のDNAプローブを用いて、突然変異体中での発現量を解析する。

(3) 冠水抵抗性突然変異ダイズを用いてプロテオーム解析を行うことにより、耐湿性機構に関与するタンパク質群を明らかにする。

(4) 本課題で絞り込んだ耐湿性候補タンパク質・遺伝子の機能を考察し、湿害発生機構あるいは耐湿性機構を明らかにする。

5. 代表的な研究成果

(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4件)

- ① Shi F, Yamamoto R, Shimamura S, Hiraga S, Nakayama N, Nakamura T, Yukawa K, Hachinohe M, Matsumoto H, Komatsu S, Cytosolic ascorbate peroxidase 2 (cAPX) is involved in the soybean response to flooding. *Phytochemistry*, 69 (2008) 1295-1303. 査読有
- ② Komatsu S, Wada T, Abelea Y, Nouri Z, Nanjo Y, Nakayama N, Shimamura S, Yamamoto R, Nakamura T, Furukawa K, Analysis of plasma membrane proteome in soybean and application to flooding stress response. *Journal of Proteome Research*, 8 (2009) 4487-4499. 査読有
- ③ Kong F, Oyanagi A, Komatsu S, Cell wall proteome of wheat roots under flooding stress using gel-based and LC MS/MS-based proteomics approaches. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, 1804 (2010) 124-136. 査読有
- ④ Komatsu S, Kobayashi Y, Nishizawa K, Nanjo Y, Furukawa K, Comparative proteomics analysis of differentially expressed proteins in soybean cell wall during flooding stress. *Amino Acids*, (2010) DOI 10.1007/s00726-010-0608-1. 査読有

[学会発表] (計5件)

- ① Shi F, Yamamoto R, Shimamura S, Hiraga S, Nakamura N, Nakamura T, Yukawa K, Hachinohe M, Matsumoto H, Komatsu S, Ascorbate peroxidase 2 (cAPX) is involved in the soybean response to flooding. 9th Conference of the International Society for Plant Anaerobiosis. 2007. 11. 18-23, Sendai
- ② Yukawa K, Komatsu S, Identification of ascorbate peroxidase 2 in soybean root under flooding stress. International Symposium of Plant Proteome Research: Contribution of Proteomics Technology in Creation of Useful Plants. 2008. 3. 10-11. Tsukuba
- ③ 和田拓也、NOURI Zaman、古川清、小松節子、ダイズ細胞膜のプロテオーム解析、第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会・合同大会、2008. 12. 12. 神戸
- ④ NOURI Zaman、小松節子、Identification of osmotic stress related proteins in

soybean plasma membrane. 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会・合同大会、2008. 12. 12. 神戸

- ⑤ 小林之人、西澤けいと、南條洋平、島村聡、中村卓司、古川清、小松節子、冠水処理により変動するダイズ細胞壁タンパク質群の解析、第32回日本分子生物学会年会、2009. 12. 10. 横浜