

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 26 日現在

機関番号：82104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24510312

研究課題名(和文) 植物の乾燥ストレス応答における新規フィードバック制御機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of a novel feedback regulation in response to drought stress in plants

研究代表者

藤田 泰成 (Fujita, Yasunari)

独立行政法人国際農林水産業研究センター・生物資源・利用領域・主任研究員

研究者番号：00446395

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：シロイヌナズナの乾燥ストレス応答において鍵因子として働いているAREB/ABF型転写因子やタンパク質リン酸化酵素SnRK2を制御するグループA 脱リン酸化酵素2C (PP2C) に注目して研究を行った。グループA PP2CのうちABI1などのサブグループAa に属するPP2Cは、植物の生存に関わる基本的な機能を担っている一方で、HAIなどのサブグループAbに属するPP2Cは、ストレス時に特異的に機能し、重要な役割を果たしていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Group A Protein Phosphatase 2Cs (PP2Cs) function as key components in ABA signaling in response to osmotic stresses by regulating AREB/ABF transcription factors via SnRK2 protein kinases in Arabidopsis plants. Here, we show that group Aa PP2Cs such as ABI1 are involved in fundamental functions in plant survival, whereas group Ab PP2Cs, including HAI1, play an important role especially under osmotic stress conditions.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：脱リン酸化酵素 フィードバック制御 植物 アブシシン酸 ストレス応答 プロテインキナーゼ 環境適応

1. 研究開始当初の背景

気候変動の影響もあり、近年、干ばつは、トウモロコシやコムギ、ダイズなどの作物生産に深刻な影響を与えている。これまでに植物ホルモンのアブシシン酸 (Abscisic acid: ABA) は、植物が干ばつなどの乾燥ストレスに対抗していく上で重要な役割を果たしていることが示されてきた。植物細胞の水分レベルの低下に伴い、ABA濃度は上昇し、そのABAと結合したABA受容体は、さらにグループAに属するタンパク質脱リン酸化酵素2C (PP2C) とも結合してABA-ABA受容体-PP2C複合体を形成する (図1)。この複合体が形成されると、タンパク質リン酸化酵素SnRK2が活性化され、SnRK2は、さらに下流にあるAREB/ABFなどの転写因子を活性化することにより、ストレス誘導性遺伝子の発現を促進し、ストレスに対抗していくことが示されている (図1)。

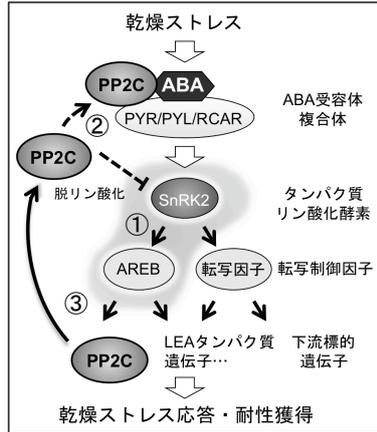


図1 ABAを介した乾燥ストレス応答

2. 研究の目的

これまでに報告者は、AREB-SnRK2経路 (図1①) およびABA-ABA受容体-PP2C複合体 (図1②) の重要性を明らかにする研究に携わってきたが、近年、AREBの下流でPP2Cの遺伝子発現が制御されているフィードバック制御の存在 (図1②) を示唆する結果を得た。そこで本研究では、未解明であったサブグループAb (図2) に属するHAIによるフィードバック制御に注目し、乾燥ストレス応答におけるHAIを介したフィードバック制御の機能と役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

乾燥ストレス応答のシグナル伝達系におけるHAIによるフィードバック制御機構を明らかにするために、本研究では主に以下の解析を行った。

(1) HAI1、HAI2およびHAI3の遺伝子発現プロファイル、タンパク質局在性および脱リン酸化能とABA感受性の関連の解析を行い、HAIの機能を明らかにした。

(2) HAIの3重変異体を用いてストレス耐性や表現型を解析し、乾燥誘導性遺伝子の発現やSnRK2によるリン酸化に与える影響を調

べ、HAIのストレス応答における役割を解明した。

(3) HAIおよびABIをロックアウトした多重変異体におけるストレス耐性や表現型などの比較解析から、高等植物に特異的なフィードバック機構の役割を明らかにした。

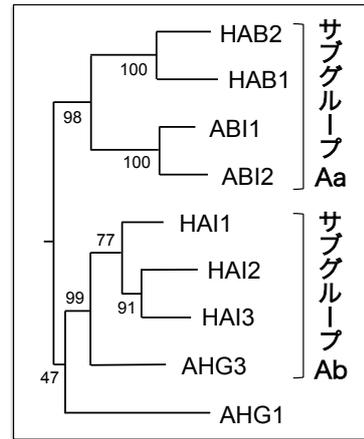


図2 グループA PP2Cの系統樹

4. 研究成果

シロイヌナズナのサブグループAaに属する脱リン酸化酵素2C (PP2C) は、植物の生存に関わる基本的な機能を担っている一方で、HAIなどのサブグループAb PP2Cは、ストレス時に特異的な機能をもっていることを明らかにした。また、主に変異体解析によって、サブグループA PP2Cによって制御されているAREB/ABF転写因子およびサブグループIII SnRK2プロテインキナーゼのストレス応答や細胞機能の恒常性に関わる新規の機能を明らかにした。これら一連の研究を通して、AREB/ABF型転写因子やSnRK2プロテインキナーゼを下流で制御するグループA PP2Cのストレス特異的なフィードバック制御においてHAIなどのサブグループAb PP2Cが重要な役割を果たしていることを示した。

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 10件)

1. Fujita, M., Fujita, Y., Iuchi, S., Yamada, K., Kobayashi, Y., Urano, K., Kobayashi, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. (2012) Natural variation in a polyamine transporter determines paraquat tolerance in Arabidopsis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 109(16): 6343-6347. [doi: 10.1073/pnas.1121406109]
2. Miyazono, K., Koura, T., Kubota, K., Yoshida, T., Fujita, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Tanokura, M. (2012) Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of OsAREB8 from rice, a member of the AREB/ABF family of bZIP transcription factors, in complex with its cognate DNA. *Acta Cryst. Sect. F* 68(4): 491-494.

- [doi:10.1107/S1744309112009384]
3. Todaka, D., Nakashima, K., Maruyama, K., Kidokoro, S., Osakabe, Y., Ito, Y., Matsukura, S., Fujita, Y., Yoshiwara, K., Ohme-Takagi, M., Kojima, M., Sakakibara, H., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012) Rice phytochrome-interacting factor-like protein OsPIL1 functions as a key regulator of internode elongation and induces a morphological response to drought stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 109(39): 15947-15952. [doi/10.1073/pnas.1207324109]
  4. Fujita, Y., Yoshida, T., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2013) Pivotal role of the AREB/ABF-SnRK2 pathway in ABRE-mediated transcription in response to osmotic stress in plants. *Physiologia Plantarum* 147(1): 15-27. [10.1111/j.1399-3054.2012.01635.x]
  5. Barbosa, E.G.G., Leite, J.P., Marin, S.R.R., Marinho, J.P., Carvalho, J.F.C., Fuganti-Pagliarini, R., Farias, J.R.B., Neumaier, N., Marcelino-Guimarães, F.C., Oliveira, M.C.N., Yamaguchi-Shinozaki, K., Nakashima, K., Maruyama, K., Kanamori, N., Fujita, Y., Yoshida, T., Nepomuceno, A.L. (2013) Overexpression of the ABA-dependent *AREB1* transcription factor from *Arabidopsis thaliana* improves soybean tolerance to water-deficit. *Plant Mol. Biol. Rep.* 31(3): 719-730.
  6. Nishiyama, R., Watanabe, Y., Leyva-Gonzalez, M.A., Ha, C.V., Fujita, Y., Tanaka, M., Seki, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Herrera-Estrella, L., Tran, L.-S.P. (2013) Arabidopsis AHP2, AHP3 and AHP5 histidine phosphotransfer proteins function as redundant regulators of drought stress response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110(12): 4840-4845. [doi: 10.1073/pnas.1302265110]
  7. Behnam, B., Iuchi, S., Fujita, M., Fujita, Y., Takasaki, H., Osakabe, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Kobayashi, M., Shinozaki, K. (2013) Characterization of the promoter region of an *Arabidopsis* gene for 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase involved in dehydration-inducible transcription. *DNA Res.* 20(4): 315-324. [10.1093/dnares/dst012]
  8. Miyakawa, T., Fujita, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Tanokura, M. (2013) Structure and function of abscisic acid receptors. *Trends Plant Sci.* 18(5): 259-266. [10.1016/j.tplants.2012.11.002]
  9. Yoshida, T., Fujita, Y., Maruyama, K., Mogami, J., Todaka, D., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2015) Four Arabidopsis AREB/ABF transcription factors function predominantly in gene expression downstream of SnRK2 kinases in abscisic-acid signaling in response to osmotic stress. *Plant Cell Environ.* 38(1):35-49. [doi: 10.1111/pce.12351]
  10. Mogami, J., Fujita, Y., Yoshida, T., Tsukiori, Y., Nakagami, H., Nomura, Y., Fujiwara, T., Nishida, S., Yanagisawa, S., Ishida, T., Takahashi, F., Morimoto, K., Kidokoro, S., Mizoi, J., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2015) Two distinct families of protein kinases are required for plant growth under high external Mg<sup>2+</sup> concentrations in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 167(3): 1039-1057. [10.1104/pp.114.249870]
- [学会発表] (計 22件)
1. Fujita, Y., Yoshida, T., Nakashima, K., Nang, M.P.S.H., Sekita, S., Fujita, M., Todaka, D., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012) AREB/ABF-SnRK2 pathway plays a key role in response to osmotic stress in plants. 23rd International Conference on Arabidopsis Research, Jul 3-7, Vienna, Austria.
  2. Yoshida, T., Fujita, Y., Maruyama, K., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012) Functional analysis of a bZIP-type transcription factor, ABF1, in SnRK2-mediated ABA signaling under drought stress. 23rd International Conference on Arabidopsis Research, Jul 3-7, Vienna, Austria.
  3. Todaka, D., Nakashima, K., Maruyama, K., Kidokoro, S., Osakabe, Y., Ito, Y., Matsukura, S., Fujita, Y., Yoshiwara, K., Ohme-Takagi, M., Kojima, M., Sakakibara, H., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012) A rice PIF-like protein OsPIL1 functions as a key regulator of internode elongation and induces a morphological response to drought stress. 10th International Congress on Plant Molecular Biology, Oct 21-26, Jeju, Korea.
  4. Mogami, J., Fujita, Y., Kidokoro, S., Tsukiori, Y., Nakagami, H., Nomura, Y., Yanagisawa, S., Ishida, T., Mizoi, J., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012) Identification of SnRK2-interacting proteins in Arabidopsis. 10th International Congress on Plant Molecular Biology, Oct 21-26, Jeju, Korea.
  5. Fujita, M., Fujita, Y., Iuchi, S., Yamada, K., Kobayashi, Y., Urano, K., Kobayashi, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. (2012) Natural variation in a polyamine transporter determines paraquat tolerance in Arabidopsis. 10th International Congress on Plant Molecular Biology, Oct 21-26, Jeju, Korea.
  6. Yoshida, T., Fujita, Y., Maruyama, K.,

- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2013) A quartet of *Arabidopsis* AREB/ABF transcription factors play pivotal roles in gene expression via ABRE *cis*-elements in ABA signaling involved in drought stress tolerance. Keystone Symposia: Plant Abiotic Stress and Sustainable Agriculture: Translating Basic Understanding to Food Production, Jan 17-22, Taos, USA.
7. Mogami, J., Fujita, Y., Kidokoro, S., Tsukiori, Y., Nakagami, H., Nomura, Y., Yanagisawa, S., Ishida, T., Mizoi, J., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2013) Identification of subclass III SnRK2-interacting proteins in *Arabidopsis*. International Workshop on Plant Membrane Biology XVI, March 26-31, 2013, Kurashiki, Japan.
  8. Girotto, L., Soldera, M.C.A., Marin, S.R.R., Kanamori, N., Fujita, Y., Yoshida, T., Marcelino-Guimarães, F.C., Yamaguchi-Shinozaki, K., Nepomuceno, A.L. (2012) *Agrobacterium*-mediated transformation of soybean variated, BR16, Gene 35S:AREB1, analysis by Southern blotting. 6th the International Crop Science Congress, Aug 6-10, Bento Gonçalves, Brazil.
  9. 月居佳史、藤田泰成、関田佐知子、Nang Myint Phyu Sin Htwe、吉田拓也、小平憲祐、城所聡、中島一雄、圓山恭之進、篠崎一雄、篠崎和子 (2013) ダイズの乾燥ストレス応答性転写因子 GmAREB3 の機能解析. 第54回日本植物生理学会年会, 3月21~23日, 岡山.
  10. 藤田美紀、井内聖、山田晃嗣、藤田泰成、小林佑理子、小林正智、篠崎和子、篠崎一雄 (2013) 植物ポリアミントランスポーターを介したパラコート輸送機構. 第54回日本植物生理学会年会, 3月21~23日, 岡山.
  11. 宮園健一、小浦翼、薛友林、窪田恵子、吉田拓也、藤田泰成、篠崎和子、田之倉優 (2013) イネの乾燥ストレス応答に関わる転写因子 OsAREB8 の X 線結晶構造解析. 日本農芸化学会2013年度大会, 3月24~28日, 仙台.
  12. Mogami, J., Fujita, Y., Kidokoro, S., Tsukiori, Y., Nakagami, H., Yanagisawa, S., Ishida, T., Mizoi, J., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2013) Identification of novel subclass III SnRK2-interacting proteins in *Arabidopsis*. 24th International Conference on Arabidopsis Research, Jun 24-28, Sydney, Australia.
  13. Behnam, B., Iuchi, S., Fujita, M., Fujita, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Kobayashi, M., Shinozaki, K. (2013) Promoter analysis of an *Arabidopsis* gene for 9-cis-epoxycartenoid dioxygenase-3 (*AtNCED3*) involved in dehydration-inducible transcription. 24th International Conference on Arabidopsis Research, Jun 24-28, Sydney, Australia.
  14. Yoshida, T., Fujita, Y., Maruyama, K., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2013) Functional analysis of ABF1 to reveal downstream transcription factors involved in SnRK2-mediated gene expression in ABA signalling. 7th EPSO Conference, Sep 1-4, Porto Heli, Greece.
  15. 藤田泰成 (2013) 国際研究機関と連携した乾燥耐性分子育種技術の開発. 日本育種学会第124回講演会・第55回シンポジウム ワークショップ: 気候変動に対応した21世紀育種戦略, 10月12~14日, 鹿児島
  16. Nishiyama, R., Watanabe, Y., Leyva-Gonzalez, M., Ha, C.V., Fujita, Y., Tanaka, M., Seki, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Herrera-Estrella, L., Tran, L.-S.P. (2014) シロイヌナズナの乾燥ストレス応答において負の制御因子として働くヒスチジンリン酸基転移タンパク質 AHP2, AHP3, AHP5 の機能解析. 第55回日本植物生理学会年会, 3月18~20日, 富山.
  17. 城所聡、渡邊慶太郎、大堀鉄平、森脇崇、圓山恭之進、Nang Myint Phyu Sin Htwe、藤田泰成、溝井順哉、篠崎一雄、篠崎和子 (2014) ダイズの環境ストレス応答に関わる DREB1 転写因子の機能解析. 第55回日本植物生理学会年会, 3月18~20日, 富山.
  18. 吉田拓也、藤田泰成、圓山恭之進、篠崎一雄、篠崎和子 (2014) シロイヌナズナの4個の AREB/ABF 転写因子が浸透圧ストレス時のアブシシン酸を介した遺伝子発現において中心的に機能している. 第55回日本植物生理学会年会, 3月18~20日, 富山.
  19. 最上惇郎、藤田泰成、吉田拓也、月居佳史、中神弘史、野村有子、藤原徹、西田翔、柳澤修一、石田哲也、森本恭子、城所聡、溝井順哉、篠崎一雄、篠崎和子 (2014) シロイヌナズナにおいて SnRK2 およびそれらの相互作用因子、SDB1 プロテインキナーゼが調節する新規な生理応答の発見. 第55回日本植物生理学会年会, 3月18~20日, 富山.
  20. Mogami, J., Fujita, Y., Yoshida, T., Tsukiori, Y., Nakagami, H., Nomura, Y., Fujiwara, T., Nishida, S., Yanagisawa, S., Ishida, T., Morimoto, K., Kidokoro, S., Mizoi, J., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2014) Novel roles of subclass III SnRK2s and their interacting partners in modulating Mg<sup>2+</sup>-susceptibility in *Arabidopsis*. Gordon Research Conference: Salt & Water Stress in Plants, Aug 3-8, Newry, USA.
  21. Yoshida, T., Fujita, Y., Maruyama, K., Mogami, J., Todaka, D., Shinozaki, K.,

Yamaguchi-Shinozaki, K. (2014) Four Arabidopsis AREB/ABF transcription factors predominantly regulate gene expression downstream of SnRK2 kinases in abscisic acid signaling. 9th Tri National Arabidopsis Meeting 2014, Sep 24-26, Heidelberg, Germany.

22. 最上惇郎、藤田泰成、吉田拓也、月居佳史、中神弘史、野村有子、藤原徹、西田翔、柳澤修一、石田哲也、森本恭子、城所聡、溝井順哉、篠崎一雄、篠崎和子 (2015) シロイヌナズナにおいて SnRK2 およびそれらの相互作用因子 SDB1 プロテインキナーゼは Mg<sup>2+</sup>感受性を調節している. 第 56 回日本植物生理学会年会, 3 月 16~18 日, 東京.

[図書] (計 1 件)

1. Fujita, Y., Nakashima, K., Yoshida, T., Fujita, M., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (2014) Role of ABA signaling in drought tolerance and preharvest sprouting under climate change. In Tuteja, N., Gill, S.S. (eds.) Climate Changes and Plant Abiotic Stress Tolerance, Wiley-VCH, 521-553. (全 114 頁。うち執筆担当分は pp.521-553 の 33 頁)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

藤田 泰成 (Fujita Yasunari)

国際農林水産業研究センター・生物資源・  
利用領域・主任研究員

研究者番号：00456395

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし