

# 環境ストレス耐性作物の開発

東京大学大学院農学生命科学研究科／国際農林水産業研究センター  
篠崎 和子

植物は劣悪環境状態になると、多数の耐性遺伝子群を働かせることにより劣悪環境に適応しています。モデル植物のシロイヌナズナを用いて、これらの環境耐性遺伝子群の働きを調節している転写因子の遺伝子群を突き止めました。これらの転写因子の遺伝子をシロイヌナズナ中で過剰発現すると、得られた遺伝子組換え体はこれまでにない高いレベルの乾燥や凍結、さらに塩害や高温等の環境ストレス耐性を示しました。さらに、この技術はイネやダイズなど多くの作物に応用できることが示され、世界的環境劣化に対応できる作物開発への応用が期待されます。

## 1. 地球レベルの環境劣化と環境ストレス耐性作物の開発

近年の温暖化等による地球規模の環境劣化や開発途上地域での爆発的な人口増加などにより、近い将来、食料の安定的な供給は人類にとって最も重要な課題になると考えられています。このため、乾燥地帯や塩類集積地等の劣悪環境でも多くの収穫が望める作物の開発は、食料の安定供給に大きく貢献すると考えられます。遺伝子組換え技術を用いた農薬耐性や病害虫耐性作物は、今日までにダイズやトウモロコシを始めとする種々な作物で開発・実用化され、その作付面積は年々拡大しています。しかし、干ばつ等の劣悪な環境に耐える作物の開発では、植物の持つ環境ストレスに対する耐性機構が複雑なことから開発が遅れているのが現状でした。しかし、最近、種々の植物の遺伝子がゲノムレベルで明らかになり、植物の持つ環境ストレス耐性機構が分子レベルで解明されるにつれて、種々の環境ストレス耐性作物の開発研究に画期的な進展がみられるようになりました。

## 2. 植物の環境ストレス耐性遺伝子群のはたらき

世界の農作物の被害状況を見ると気象被害が大きな割合を占め、その中でも干ばつによる被害が最も大きくなっています。ダイズやトウモロコシやコムギ等ではその世界生産の30%近くが、毎年干ばつによって何らかの被害を受けていることが報告されています。また、灌漑農業では地中の塩分が表土に移動することから塩害が問題になっており、塩ストレス耐性の改良も重要となっています。さらに、今後は地球温暖化による高温に対する耐性の付与も重要になると考えられます。我々の研究グループ

では、モデル植物のシロイヌナズナやイネを用いて、植物の乾燥ストレス耐性機構で働く遺伝子群について研究を行い、マイクロアレイ等の最新の技術によって、植物ゲノム中には300種以上の耐性遺伝子群が存在し、その遺伝子群の機能は非常に多様であることを明らかにしました。その遺伝子産物には水の細胞内輸送を行う水チャネルタンパク質や変性タンパク質を再生するシャペロン、細胞中の高分子物質を保護するLEAタンパク質、適合溶質である糖やプロリンやベタインの合成酵素等多数が挙げられます(図1)。

ドイツや米国には、乾燥に対して特別な耐性を示す復活植物やアイズプラントを用いて、乾燥時に働く遺伝子の研究を行っているグループがあります。これらの植物を用いた場合も、シロイヌナズナやイネと同様の乾燥耐性遺伝子群が単離

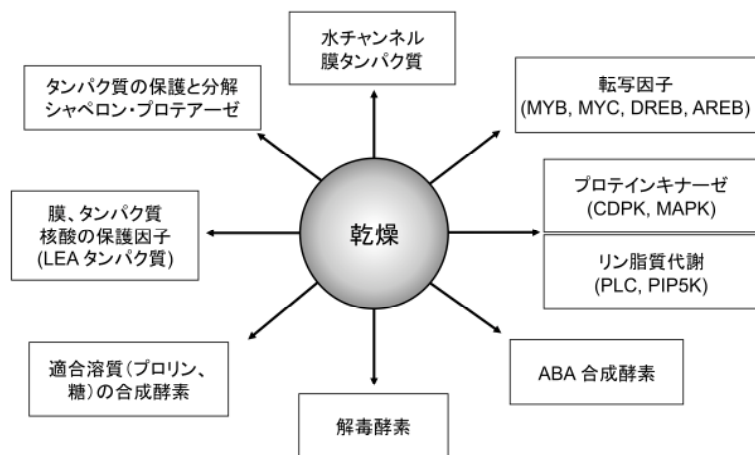


図1 乾燥ストレスによって誘導される遺伝子群の機能

されており、普遍的に高等植物が陸上化するために獲得してきた遺伝子群であると考えられます。

これらの耐性遺伝子を植物に導入して耐性植物を作出する研究が、我々の研究グループの他、米国やスペイン、英国やドイツ等で行われました。適合溶質のベタインやプロリン等の生合成の鍵となる酵素の遺伝子をタバコやシロイヌナズナやイネ等に導入して、乾燥や塩ストレスに対する耐性植物が得られました。適合溶質であるトレハロースやオリゴ糖の合成酵素の遺伝子を用いた研究でも乾燥や低温ストレスに対する耐性の向上が観察されました。この他、LEAタンパク質の遺伝子をコムギやイネに導入して乾燥耐性が向上した例やシャペロンの機能を持つHSP遺伝子をタバコやシロイヌナズナに導入して乾燥や高温に強くなることも示されました。しかし、これらの遺伝子組換え植物の耐性度の向上はわずかなものであり、実際に劣悪環境地帯で栽培可能な耐性度の高い植物を作出するためには、耐性機構に関与する多くの遺伝子の発現を複合的に変化させることが有効であると考えられました。

### 3. 環境ストレス耐性遺伝子群の働きを制御する転写因子

植物の乾燥耐性の獲得には多くの耐性遺伝子群が関与しており、一つの遺

伝子を導入しただけでは十分な耐性を付与できないことが明らかになり、耐性機構に関与する多くの遺伝子の発現を複合的に変化させることが有効であると考えられました。転写因子は DNA である遺伝子に直接結合して、その働きを活性化する制御タンパク質であり、ストレス耐性を獲得するために働く複数の遺伝子の働きを同時に改変することができます。環境ストレス応答では 300 以上のストレス耐性遺伝子の働きを、数種の転写因子が制御していると考えられ、これらの転写因子の遺伝子は耐性植物の開発に特に有効であると考えられます(1)。

我々の研究グループは、乾燥や塩や高温や低温等の多様な環境ストレス応答で働く転写因子である DREB を単離しました(2)。DREB には DREB1 と DREB2 とがあり、最初 DREB1 に関して多くの研究が行われました。DREB1 は植物の低温ストレス耐性機構で働く転写因子であり、植物の低温耐性遺伝子群の働きを活性化します。DREB1 によって活性化される耐性遺伝子は乾燥や塩ストレス耐性の向上にも働くので、DREB1 遺伝子を強く働くように改変すれば、制御している複数の耐性遺伝子の働きを同時に強化することが可能になり高い耐性を植物に付与できると考えられます。そこで、DREB1 遺伝子をストレス誘導性のプロモーターと組み合わせてシロイヌナズナに導入すると、得られた遺伝子組換え植物はこれまでにない高いレベルの乾燥・塩・低温耐性を示しました(3)。マイクロアレイやメタボローム解析法を用いて、得られた組換えシロイヌナズナを解析すると、この植物中では、ストレス時に 50 種以上の耐性遺伝子群が強く働いていることや適合溶質として耐性の獲得に働くことが示されている糖やアミノ酸が高いレベルで蓄積されていることが明らかになりました(4)。植物は進化の過程において陸上化したときに環境ストレスに対する耐性機構を獲得したと考えられ、

どの陸上植物も類似した耐性機構を持っていると考えられます。そこで、タバコやイネ中でシロイヌナズナの DREB 遺伝子を過剰発現させてみました。得られた

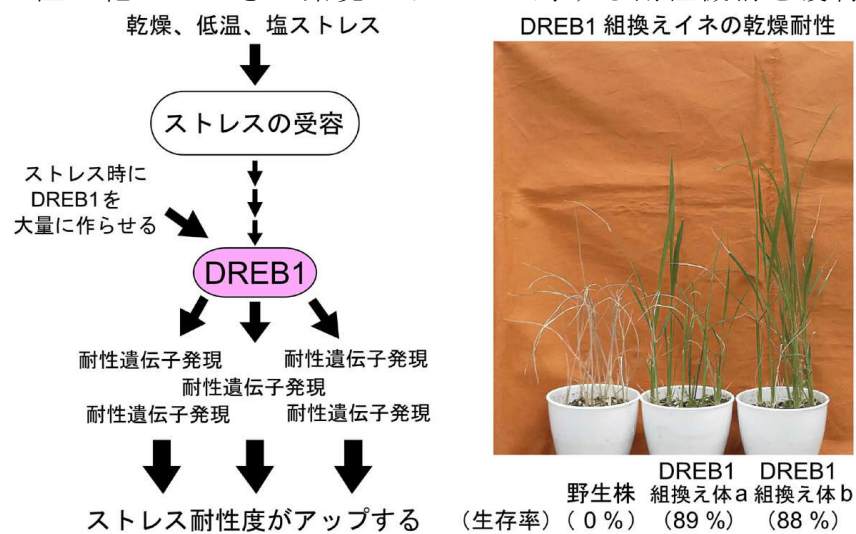


図2 転写因子 DREB1 の過剰発現による植物のストレス耐性獲得のモデルと DREB 組換えイネの乾燥耐性

組換え植物はシロイヌナズナと同様に、乾燥・塩・低温ストレスに対して高い耐性を獲得していました（図2）。このように、*DREB1* 遺伝子は、多くの種類の植物が共通に保持する環境ストレスに応答する耐性獲得系であることが明らかになりました。

一方、*DREB2* はシロイヌナズナの乾燥、塩、高温ストレス耐性機構で働く転写因子であり、植物の多くのストレス耐性遺伝子の働きを活性化します。しかし、この遺伝子を植物中で高発現しても植物には何の変化も起こりませんでした。このため、この遺伝子の耐性作物開発への利用は *DREB1* の様には進みませんでした。しかし最近、*DREB2* タンパク質には非活性化領域があり、ストレスがないときはこの領域が *DREB2* の働きを抑えていることが明らかになりました(5)。この非活性化領域はタンパク質の安定化に関与していることが示されたので、この領域を取り除いて *DREB2* をシロイヌナズナに導入すると乾燥、塩、高温ストレスに対する高い耐性が観察されました(6,7)。この組換え植物中では多くのストレス耐性遺伝子の働きが強められていました。*DREB2A* は地球温暖化による干ばつや高温ストレス環境に対応した作物の開発に重要な遺伝子と考えられます。

環境ストレス応答ではこの他、数種の転写因子遺伝子が働いており、我々の研究グループはこれらの遺伝子に関しても統合的に研究を行っています(1)。この中でシロイヌナズナの AREB はストレス下で合成される植物ホルモンのアブシジン酸 (ABA) によって制御されている転写因子であり、シロイヌナズナ中で強く発現すると乾燥や塩耐性を高めることを明らかにしました(8-10)。また最近、ABA の受容から AREB の活性化に至るシグナル伝達機構の研究を行い、その機構を分子レベルで明らかにしました(11)。

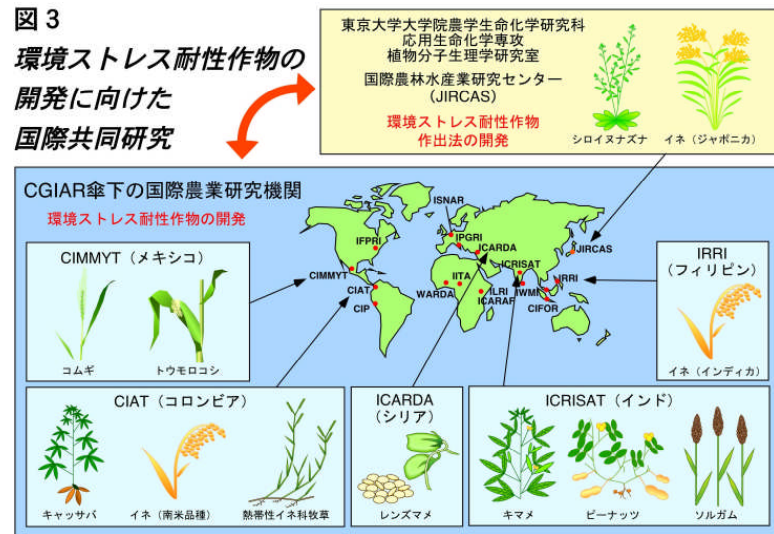
#### 4. 環境耐性作物の開発のための国際共同研究の推進

*DREB* 遺伝子についての成果を報告すると、*DREB* 遺伝子を環境耐性作物の開発に利用したいという共同研究の申し込みが世界中から殺到しました。現在、これらの中から国際農業研究協議グループ (CGIAR) などの研究機関と10件以上の共同研究を行っています(図3)。これらの共同研究では、イネやコムギ、トウモロコシ、マメ、イモ、牧草等への *DREB* 遺伝子の導入やストレス誘導性プロモーターの利用を試みています。

特に、世界の食糧を支えるイネやコムギなどでは、国際イネ研究所 (IRRI、イネ：インディカ) や国際トウモロコシコムギ改良センター (CIMMYT、コムギ) や国際熱帯農業研究センター (CIAT、南米産イネ) と共同で、それぞれ作物を取り決めて応用研究を行っています。これらの機関ではこれまで従来の交配技術等を用いて高収量品種の開発を行い、単位面積あたりの

収穫高を上げることで開発途上地域の食糧増産に寄与してきました。DREBを用いた遺伝子組換え技術は、新たな農業技術革新への発展性を秘めています。また、マメ科作物は開発途上地域のタンパク質源として重要な作物である

図3  
環境ストレス耐性作物の開発に向けた国際共同研究



ため、国際半乾燥熱帯作物研究所 (ICRISAT、ピーナッツ、ピジョンピー) やブラジル農牧研究公社 (EMBRAPA、ダイズ) などとの共同で環境ストレス耐性なマメ科作物の開発を推進しています。これらの共同研究を通じて差し迫った開発途上国の食糧問題解決への貢献が期待されています。

## 5. おわりに

我々は現在、他の研究グループと共同でシロイヌナズナの DREB 等の転写因子遺伝子を作物に応用しようと研究を推進する一方で、それぞれの作物の相同性遺伝子の探索やその作物に応じたプロモーターの選択なども行っています。これらの転写因子の遺伝子が様々な植物における強力なストレス耐性獲得機構の中心的役割を担うものとして期待しています。一方、シロイヌナズナやイネを用いてさらに多くの植物が持つ環境ストレス耐性の制御機構を明らかにしようと基礎研究を続けています。近年、様々な植物の全ゲノム配列が着々と決定されつつあり、これらの情報をもとに植物の持つ環境ストレス耐性機構をゲノム全体で解析することが可能になり、研究の急速な進展が見込まれています。こうした研究が人類の食糧問題を解決し、地球環境の修復のために役立つことを願っています。

## 6. 参考文献

- (1) Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. (2006) Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 781-803.
- (2) Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, Abe H, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1998) Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in Arabidopsis. *Plant Cell* 10: 1391-1406

- (3) **Kasuga M., Liu Q., Miura S., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki K.** (1999) Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nature Biotechnol.* 17, 287-291.
- (4) **Maruyama, K., Takeda, M., Kidokoro, S., Yamada, K., Sakuma, Y., Urano, K., Fujita, M., Yoshiwara, K., Matsukura, S., Morishita, Y., Sasaki, R., Suzuki, H., Saito, K., Shibata, D., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2009) Metabolic pathways involved in cold acclimation identified by integrated analysis of metabolites and transcripts regulated by DREB1A and DREB2A. *Plant Physiol.* 150(4), 1972-1980.
- (5) **Sakuma, Y., Maruyama, K., Osakabe, Y., Qin, F., Seki, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2006) Functional analysis of an Arabidopsis transcription factor, DREB2A, involved in drought-responsive gene expression. *Plant Cell* 18, 1292-1309
- (6) **Qin, F., Sakuma, Y., Tran, L.-S. P., Maruyama, K., Kidokoro, S., Fujita, Y., Fujita, M., Umezawa, T., Sawano, Y., Miyazono, K., Tanokura, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2008) Arabidopsis DREB2A-interacting proteins function as RING E3 ligases and negatively regulate plant drought stress-responsive gene expression. *Plant Cell* 20, 1693-1707.
- (7) **Sakuma, Y., Maruyama, K., Qin, F., Osakabe, Y., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2006) Dual function of an Arabidopsis transcription factor DREB2A in water-stress- and heat-stress-responsive gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103, 18828-18833.
- (8) **Fujita, Y., Fujita, M., Satoh, R., Maruyama, K., Parvez, M.M., Seki, M., Hiratsu, K., Ohme-Takagi, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2005) AREB1 is a transcription activator of novel ABRE-dependent ABA-signaling that enhances drought stress tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell* 17, 3470-3488
- (9) **Furihata, T., Maruyama, K., Fujita, Y., Umezawa, T., Yoshida, R., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2006) ABA-dependent multisite phosphorylation regulates the activity of a transcription activator AREB1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 1988-1993.
- (10) **Yoshida, T., Fujita, Y., Sayama, H., Kidokoro, S., Maruyama, K., Mizoi, J., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K.** (2010) AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation. *Plant J.* 61, 672-685.
- (11) **Miyazono, K., Miyakawa, T., Sawano, Y., Kubota, K., Kang, H.-J., Asano, A., Miyauchi, Y., Takahashi, M., Zhi, Y., Fujita, Y., Yoshida, T., Kodaira, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Tanokura, M.** (2009) Structural basis of abscisic acid signaling. *Nature* 462, 609-614..