

代謝シグナル制御によるイネのストレス耐性強化に関する研究

共生基盤学専攻 生物共生科学講座 北海道農業生産基盤学 高橋 直希

1. 背景と目的

北海道におけるイネの冷害は4年に1度の頻度で起きており、イネの低温耐性に関する研究は、重要な課題の1つである。当研究室では、イネのジベレリン (GA) 生合成酵素欠損株(Δ GA 株)の栽培過程で Δ GA 株が十分な給水が与えられなくても生存できることを見出している。低温ストレスは、乾燥ストレスと同様に、細胞内脱水が引き起こされるストレスである。そこで、本研究では、 Δ GA 株による脱水ストレス耐性獲得のメカニズムを解明すること、そして、そのメカニズムを利用し、低温耐性を強化させた形質転換体を創出することを目的とした。そのため、(1) Δ GA 株における乾燥耐性と低温耐性の評価、(2) Δ GA 株における ABA の内生量定量及び、脱離葉を用いた蒸散量の評価、(3) Δ GA 株におけるトランスクリプトーム解析、(4) Δ GA 株における活性酸素種 (ROS) 消去能の解析、(5) 低温ストレスに応答し GA 量を減少させる形質転換イネの作出及び、その低温ストレス耐性の評価の各項目に関する研究を行った。

2. 方法

野生株 (品種: 日本晴) と GA 欠損株 (Δ KAO, Δ CPS) を用いた。乾燥ストレスは、3日間の給水停止、低温ストレスは 5°C に設定したグロースチャンバー内で5日間の処理を行った。植物ホルモンの分析は抽出液を C18 カラムで分画後、UPLC-MS/MS を用いて ABA 内生量の測定を行った。また、脱離葉を用いて、経時的な蒸散量の評価を行った。トランスクリプトーム解析は、乾燥条件および、通常条件の植物体について、44k オリゴ DNA マイクロアレイ (Agilent) を使用し、二色法を用いて解析した。活性酸素種 (ROS) の検出は、CM-H₂DCFDA を用い、乾燥ストレス時の ROS の蓄積を蛍光顕微鏡下において観察した。形質転換体は *Dreb1b::GA2ox* 遺伝子を *Agrobacterium* 法により導入し、4日間の低温ストレス (5°C) 耐性試験を実施した。

3. 結果と考察

Δ GA 株は、乾燥ストレス及び、低温ストレスに対して高い耐性を示した。水分蒸散量、ABA の内生量は、野生型と Δ GA 株に大差がなかったことから、ABA を介した耐性獲得ではないと判断された。野生株と Δ GA 株における発現遺伝子の違いをトランスクリプトーム解析により調べたところ、 Δ GA 株では、様々な遺伝子が高発現していた。この中に LEA タンパク質など乾燥耐性を直接付与すると考えられるタンパク質は見出されなかったが、抗酸化活性をもつタンパク質が高発現していた。乾燥ストレス時における ROS の蓄積を両株で比較したところ、ストレス初期の ROS 消去能が乾燥耐性をもたらす1つの要因であることが示唆された。GA 分解酵素を低温特異的に発現する融合遺伝子 (*Dreb1b::GA2ox*) を導入した形質転換体を作成したところ、低温耐性が獲得された。つまり、脱水ストレス時の GA 量を抑えることで、ストレス耐性強化が可能であることが示された。

4. まとめ

本研究から、GA が低温、乾燥など脱水ストレス耐性に対して負の作用をもつこと、及び Δ GA 株が示す高度なストレス耐性は ROS 消去能が関与する可能性が明らかにされた。また、低温に応答して GA 量を抑えるシステムを導入することで、イネの低温耐性を高めることに成功した。今後は、形質転換体の穂ばらみ期耐冷性や活性酸素消去系以外のタンパク質の関与についても検討して行く必要がある。