

植物の脱水ストレス耐性機構の解明

Mechanisms underlying dehydration tolerance in plants

竹澤 大輔 (理工学研究科・助教授)

Daisuke Takezawa (Associate Professor, Graduate School of Science and Engineering)

1. 研究目的

多くの植物は、凍結や乾燥などにより細胞が脱水を受けると著しい傷害を受ける。しかし、植物種によっては条件的に高い脱水耐性を獲得することが知られている。これら植物では、ストレス環境下で細胞膜やタンパク質を保護する機構が発現すると考えられるが、その耐性メカニズムについては不明な点が多い。本研究では、低温やストレスホルモンであるアブシジン酸処理により高い凍結・脱水耐性を発揮するヒメツリガネゴケ原糸体細胞を材料として用い、細胞の脱水耐性発現機構の分子機構を明らかにすることを目的とする。高い遺伝子導入効率を持つヒメツリガネゴケの一次形質転換発現系を用い、細胞に脱水耐性を付与する遺伝子をスクリーニングする。また、耐性を獲得できない変異株を単離し、細胞内のタンパク質や溶質の違いを野生株と比較することで、耐性に必要な因子の同定を試みる。

2. これまでの研究経過

一過的発現系を用いたアッセイでは、ヒメツリガネゴケプロトプラストにPEG法で遺伝子導入後1週間の形質転換体を、プログラムフリーザーで $-2.4^{\circ}\text{C}/\text{h}$ で -10°C まで緩速凍結し、融解した後に再成長させるプロトコールにより、導入された遺伝子の効果を容易に判定できるシステムを確立した。ABA応答に関わる転写因子*PpABI3*遺伝子を一過的に発現させたヒメツリガネゴケ形質転換細胞では、凍結後の生存率がベクターのみの場合に比べて著しく増加していた。この結果から、遺伝子導入によりコケ細胞のストレス耐性を改変することが可能であることが示され、また、短時間でストレス関連遺伝子の機能評価を行うことが可能になった。これらの実験は、蘚類を用いた植物ストレス耐性の新たな評価系の確立に大きく貢献することが期待される。

コケ原糸体細胞を紫外線処理することにより得られたAR変異株は、野生株と異なり、アブシジン酸により成長阻害を受けない。この変異株においてアブシジン酸処理やストレス処理後の凍結耐性の変化を調べたところ、野生株のように耐凍性を獲得することができないことが明らかとなった。AR変異株はまた、高張液による脱水処理に対して高い感受性を示した。この変異株における遺伝子、タンパク質及び糖解析を行い、結果を野生株と比較したところ、それらの蓄積に大きな違いが見られた。変異株では、低温誘導性のCAP160様遺伝子やデハイドリン遺伝子の発現が、著しく減少していた。タンパク質解析においてもこれらの減少を支持する結果が得られた。糖の解析では、スクロースの蓄積量に大きな変化はなかったが、凍結耐性と相関して蓄積する3糖テアンデロース (図1) の蓄積量が野生株と比べて低く抑えられていた。

