

# 植物の脱水ストレス耐性機構の解明

## Mechanisms underlying dehydration tolerance in plants

プロジェクト代表者：竹澤 大輔 (大学院理工学研究科・准教授)

Takezawa, Daisuke (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した。

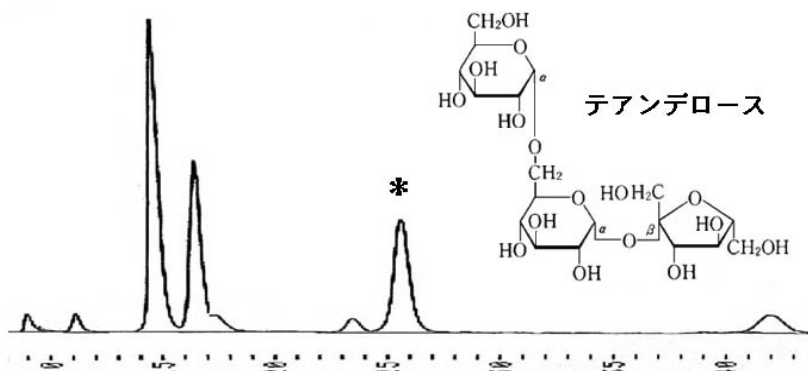
### 2. 研究経過および成果

これまでに蘚類ヒメツリガネゴケの適合溶質を解析し、低温処理や脱水処理で多量に蓄積する適合溶質としてオリゴ糖を見出した。HPLC などの簡易解析では、これまでに植物が蓄積するオリゴ糖として知られているピークとは一致しなかった。メチル化およびNMR 解析の結果、この糖がテアンデロースという3糖であることが明らかになった。テアンデロースの生物学的意義はこれまで全く不明であったが、この発見により、本糖の脱水耐性における保護的役割が初めて示唆された (Nagao et al., 2006)。この結果から明らかになった重要な点は、テアンデロースがスクロース単位をもち、その6位に結合を持つということである。この構造は、乾燥耐性の高い種子に蓄積する「ラフィノース」にも見られ、脱水保護機能を持つ糖に共通の構造であることが推察される。以前の化学的解析から、このような構造を持つ糖はスクロースの結晶成長を阻害

することが知られており、同様に6位に結合を持つスタキオースなどを含めた「スクロースモディファイア」が脱水保護物質の共通構造としてパターンの一つであることが明らかとなった。

この研究に用いたヒメツリガネゴケは、他の植物と比べ

るとはるかに高い耐性を持つが、コケ植物としては「中程度」の耐性を持つにすぎない。テアンデロースを蓄積するコケ植物がどの程度存在するかは明らかではないが、我々の最近の解析では、異なる科に属し、さらに高い耐性を持つコケ植物 (Pogonatum 属など) では全く違う種類の適合溶質を蓄積していることが示唆されている。様々なコケ植物からの適合溶質の解析により、機能未知の細胞保護物質を同定し、それらの共通構造とグループ化、さらには未知の適合溶質の分子構造予測が可能であると考えている。



コケ原系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。また、アブシジン酸誘導性タンパク質 17B9 の蓄積も野生株と比べて半分程度に低く抑えられていた。糖の解析では、これまで耐凍性発現に重要であると考えられていた 2 糖スクロースの蓄積量を解析したが、驚くべきことに野生株と比べて AR7 株に大きな変化はなかった。しかし、テアンデロースの蓄積量を解析したところ、AR7 変異株では野生株と比べて著しく低い蓄積量を示した。(Minami et al., 2006a) 野生株では、B3 ドメインを持つ転写因子 PpABI3 が細胞のストレス応答において重要な役割を担っていると考えられている。私たちの実験系でも過去に PpABI3 遺伝子をコケ細胞に導入することにより、細胞が高い耐凍性を獲得することを示した (Minami et al., 2006b)。そこで、この PpABI3 遺伝子を AR 変異株に導入し、凍結耐性の変化を調べた。PpABI3 の導入は、AR 変異を相補することが予想されたが、意外にも遺伝子導入した変異株は耐凍性を獲得することができなかった。これらの結果は、AR 変異株が PpABI3 非依存的な未知のストレスシグナルの伝達過程に欠損を持つ変異株であることを示す。今後、コケ細胞の一次形質転換系における評価系を用いて、AR7 変異を相補する遺伝子を行っていく予定である。

### 3. 発表論文および総説

Nagao, M., Oku, K., Minami, A., Mizuno, K., Sakurai, M., Arakawa, K., Fujikawa, S. and **Takezawa, D.**: Accumulation of the androse in association with development of freezing tolerance in the moss *Physcomitrella patens*. *Phytochemistry* 67: 702-709 (2006)

Minami, A., Togawa, S., Nagao, M. and **Takezawa, D.**: Altered Freezing tolerance in the *Physcomitrella patens* mutant with reduced sensitivity to abscisic acid. *Cryobiology and Cryotechnology* 52: 135-139 (2006a)

Minami, A., Nagao, M., Arakawa, K., Fujikawa, S., and **Takezawa, D.**: Physiological and morphological alteration associated with freezing tolerance in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cold Hardiness* pp138-152, Chen.T. and Uemura M. Eds. CAB Intl., Wallingford, (2006b)