

博士論文 (要約)

乾燥ストレス耐性植物の成長促進制御

工藤 まどか

## 目次

目次 .....	1
略語一覧 .....	2
図表一覧 .....	2
第 1 章 序論 .....	3
第 2 章 材料と方法 .....	5
第 3 章 乾燥ストレス耐性植物へ導入する成長促進遺伝子の探索 .....	5
第 4 章 転写因子遺伝子の導入による乾燥ストレス耐性植物の成長促進制御 .....	5
第 5 章 植物ホルモン合成酵素遺伝子の導入による乾燥ストレス耐性植物の成長促進制御 .....	6
第 6 章 総合討論、結論 .....	6
引用文献 .....	6
謝辞 .....	7

## 略語一覧

本項の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。5年以内に出版予定。

## 図表一覧

本項の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。5年以内に出版予定。

## 第1章 序論

食糧とエネルギーは、私たち人類の生存のために必要不可欠である。しかし、現在これらはいずれも供給に関して大きな課題を抱えている。FAO の報告によると、2017 年において世界中で 8 億人以上の人々が食糧不足に直面し、飢餓や栄養失調に苦しんでいる (FAO et al., 2017)。さらに、世界の人口は開発途上国と新興工業国において大幅な増加が見込まれており、現在の 76 億人から 2030 年には 86 億人、2050 年には 98 億人まで増加すると予測されている (United Nations, 2017)。これに伴い、2000 年から 2050 年までの間に世界の食糧需要量は 1.55 倍に、バイオエタノールとバイオディーゼルの需要量はそれぞれ約 29 倍と約 386 倍に増加する見通しである (農林水産省「2050 年における世界の食糧需給見通し」、2012)。人口増加に伴い食糧需要が増加する一方、化石燃料の枯渇問題が顕在化し、温暖化の進行によって引き起こされる異常気象は農業生産に悪影響を与えている。食糧不足の解決や、持続可能なエネルギー資源となるバイオマスの確保のために、安定した農作物生産が求められている。農作物生産は、病害、虫害、雑草害、栄養欠乏、乾燥や塩害などの環境ストレスに左右される。とりわけ干ばつは農作物生産に大きな影響を与える (Boyer, 1982; Lesk et al., 2016; Tester and Langridge, 2010)。そのため、乾燥ストレスに対する植物の耐性獲得機構への理解を深め、劣悪条件下でも安定した収量が見込めるような乾燥ストレス耐性作物を育種することが必要である。

植物は移動の自由を持たないため、生育環境の影響を絶えず受けている。これに対して植物は個体レベル、組織レベル、細胞レベルなど様々な段階での応答機構を有し、遺伝子発現の変化を引き起こす (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006)。植物は乾燥に遭遇すると細胞内浸透圧の調節や細胞膜の安定化に寄与する適合溶質やタンパク質などを合成して乾燥ストレス耐性を獲得する一方で、細胞分裂および細胞伸長を制御する遺伝子群の発現量を調節して自らの生育を抑える。そのため、植物の乾燥ストレス耐性と生育はトレードオフの関係にあるとされている (Claeys and Inze, 2013)。そこで、劣悪環境下で「生き延びる」植物を作ることには出来ても「十分に育つ」植物を作ることには難しいと考えられる。この生育の抑制は農業上問題となる収量の低下に繋がることから、植物の乾燥ストレス条件下における成長制御機構を解明することはきわめて重要である。バイオマス生産性を向上させた乾燥ストレス耐性植物を創出するためには、植物に元来備わっている乾燥

ストレス耐性とバイオマス量のトレードオフの関係を理解し、これを打破する可能性を探る必要がある。

これまでに、乾燥ストレス応答で働く遺伝子を用いて乾燥ストレス耐性を向上させた植物の作出が盛んに行われてきたが、これらの植物は往々にして生育抑制までもが再現され、収量やバイオマス量が減少する例が多かった (Bhatnagar-Mathur et al., 2007; Hsieh et al., 2002; Ito et al., 2006; Kasuga, 2004; Kasuga et al., 1999; Liu et al., 1998; Morran et al., 2011; Zhang et al., 2005)。この問題を受け、乾燥ストレス誘導性プロモーターを用いることにより、乾燥ストレス時特異的に耐性を付与する遺伝子を発現させて植物の矮化を緩和できることが示された (Bhatnagar-Mathur et al., 2007; Kasuga et al., 1999; Pino et al., 2007; Suo et al., 2012)。しかし、この手法を用いたとしても、植物が乾燥ストレスを長期に渡って受けたりまたは断続的に受けた場合は、乾燥ストレス応答性遺伝子が恒常的に発現する状態に近くなるため、生育への負の影響は避けられないと考えられる。また、植物種に応じたストレス誘導性プロモーターを選定する必要があることも弊害となる。例えば、シロイヌナズナ由来の *RESPONSIVE TO DEHYDRATION 29A (RD29A)* のプロモーターは、シロイヌナズナおよびタバコにおいてはほとんどすべての組織で乾燥ストレス時特異的な過剰発現を可能にするが、イネでは根のみで発現を誘導し葉身では発現を誘導できないことが報告されている (Ito et al., 2006; Kasuga et al., 2004)。そのため、乾燥ストレス耐性植物が示す生育遅延を解決するためには、ストレス誘導性プロモーターの利用以外の手法も開発する必要があると考えられる。

本研究では、乾燥ストレス耐性植物の成長を促進するため、転写因子遺伝子または植物ホルモン合成酵素遺伝子を導入することによってその効果を検証した。個体レベルの解析 (乾燥ストレス耐性試験・成長解析) および分子レベルの解析 (遺伝子発現解析・代謝物解析) を行い、植物に与える影響を評価した。本研究によって得られた植物の成長制御に関する基礎的知見は、高バイオマス生産性の乾燥ストレス耐性植物の創出に資すると期待される。

## 第2章 材料と方法

本章の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。5年以内に出版予定。

## 第3章 乾燥ストレス耐性植物へ導入する成長促進遺伝子の探索

本章の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。5年以内に出版予定。

## 第4章 転写因子遺伝子の導入による乾燥ストレス耐性植物の成長促進制御

本章の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。5年以内に出版予定。

本章の内容の一部は共著論文として学術雑誌に掲載されており、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。本章の内容の一部は、以下の原著論文に掲載されている。

Kudo, M., Kidokoro, S., Yoshida, T., Mizoi, J., Todaka, D., Fernie, A.R., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2017) Double overexpression of DREB and PIF transcription factors improves drought stress tolerance and cell elongation in transgenic plants. *Plant Biotechnology Journal* 15, 458-471.

## 第 5 章 植物ホルモン合成酵素遺伝子の導入による乾燥ストレス耐性植物の成長促進制御

本章の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。5 年以内に出版予定。

## 第 6 章 総合討論、結論

本章の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。5 年以内に出版予定。

## 引用文献

本項の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。5 年以内に出版予定。

## 謝辞

本研究の推進にあたり、多大なるご指導、ご助言、また恵まれた研究環境を賜りました植物分子生理学研究室の篠崎和子教授に深く感謝致します。また、本研究の遂行にあたりご支援いただいた、植物分子生理学研究室の城所聡助教、溝井順哉講師、戸高大輔特任助教には実験を遂行するにあたり、貴重なご助言を賜り、また論文の執筆にあたり多くのご指導をいただいたことを心より感謝致します。また、本研究を進める上で、多くの重要なお助言を賜りました理化学研究所環境資源科学研究センターの篠崎一雄センター長に深く感謝致します。メタボローム解析を遂行するにあたり、Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology において多くのご支援をいただいた Alisdair R. Fernie 教授、吉田拓也博士、所属研究員の皆様に、厚く御礼申し上げます。また、研究活動費においては、日本学術振興会より特別研究員奨励費 (16J01053) のご支援を頂きました。植物分子生理学研究室の技術補佐員、秘書の方々と日々の生活と実験を支えていただいた所属学生の皆様に、厚く御礼申し上げます。最後に、大学院生活へのご支援をいただいた家族と友人に感謝いたします。

平成 30 年 2 月

工藤 まどか