

「二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力強化と生産物活用のための基盤技術の創出」

平成 25 年度採択研究代表者

H29 年度
実績報告書

関 原明

理化学研究所環境資源科学研究センター

チームリーダー

エピゲノム制御ネットワークの理解に基づく
環境ストレス適応力強化および有用バイオマス産生

§ 1. 研究実施体制

(1)「関」グループ

- ① 研究代表者: 関 原明 (理化学研究所環境資源科学研究センター、チームリーダー)
- ② 研究項目
 - ・環境ストレス耐性に関与するシロイヌナズナのエピゲノム制御因子の同定および機能解析
 - ・エピゲノム操作や酢酸などの化合物の活用などによるストレス耐性植物作出法の開発

(2)「土生」グループ

- ① 主たる共同研究者: 土生 芳樹 (農業・食品産業技術総合研究機構生物機能利用研究部門、ユニット長)
- ② 研究項目
 - ・ストレス耐性関連エピゲノム因子のイネホモログの機能解析
 - ・シロイヌナズナで見出されたストレス耐性植物作出法のイネでの検証

(3)「松永」グループ

- ① 主たる共同研究者: 松永 幸大 (東京理科大学理工学部、教授)
- ② 研究項目
 - ・エピゲノム制御のイメージング定量解析
 - ・環境ストレス耐性植物の定量評価解析

§ 2. 研究実施の概要

環境ストレス適応におけるエピジェネティックな制御機構の解明を通して環境ストレス適応力や物質生産力に関与する新規な制御ネットワークを発見する事、さらにそのネットワークを活用することにより環境変化に強く有用バイオマスを産生する植物の創出法を開発する事を目的として以下の項目を実施した。

(1) 環境ストレス耐性に関与するシロイヌナズナのエピゲノム制御因子の同定および機能解析
これまでにヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤 11 個がシロイヌナズナにおいて塩ストレス耐性付与に有効であることを見出した。塩ストレス耐性付与の分子機構解明を目指して解析を進め、以下の知見を得た。1) *hda19* 変異体が塩ストレスだけではなく乾燥や高温ストレスに対しても耐性も示すことを明らかにした。2) 塩や乾燥ストレスに感受性を示した *hda5/14/15/18* 四重変異体で上昇する新規アセチル化サイトを認識する抗体の作製に成功した。アセチル化を受ける各リジン残基に恒常的アセチル化状態を模倣する点変異を導入した植物体の作出を進めた。また、ヒストンの高アセチル化状態を検出可能なラインを利用して、高アセチル化状態が誘導され、かつ塩ストレス応答に関わる変異体のスクリーニングを進め、候補遺伝子を見出した。

(2) エピゲノム操作や酢酸などの化合物などの活用による環境ストレス耐性植物作出法の開発
酢酸による乾燥ストレス耐性付与がキャッサバにおいても有効であることを実証した。エタノールが耐塩性・乾燥耐性・高温ストレス耐性を付与することを新たに見出した。高塩ストレス下ではエタノール処理によって種々の活性酸素除去酵素の遺伝子発現が促進されること、なかでもアスコルビン酸ペルオキシダーゼの発現および活性が増強されることが示された。これらの結果から、エタノール処理は活性酸素種を除去することによって耐塩性を強化することを見出した

(3) イネにおけるストレス耐性関連エピゲノム制御因子の機能解析およびストレス耐性植物作出法の検証

イネを用いた実験から以下のデータを得た。(1)シロイヌナズナでストレス耐性に関わる *HDA6* 遺伝子のイネホモログのうち、*HDA6*に最も近いイネ *OsHDA705* 遺伝子の 2 つの独立した変異アリルについて、BS-seq によるエピゲノム解析を行い、一部のストレス応答性遺伝子上流域に存在するトランスポゾンの CHH メチル化が上昇していることを明らかにした。(2) *OsHDA705* 変異体のトランスクリプトーム解析によりゲノム中のトランスポゾン様配列からの転写産物蓄積を検出し、シロイヌナズナと比較して活性遺伝子領域近傍にトランスポゾンが分散するイネではヒストン脱アセチル化酵素によるクロマチン制御が異なる可能性を示した。(3) イネでは酢酸に加えて、ギ酸、プロピオン酸でも乾燥耐性を付与できることが明らかとなった。(4) ストレス耐性と生長・収量のトレードオフに関して、ジベレリン不活性化酵素に関わる新たなジャスモン酸-ジベレリンのクロストークの存在が示唆された。(5) トランスクリプトーム解析およびエピゲノム解析の結果から、イネ根の先端で塩ストレスに応答したジャスモン酸シグナルの抑制に関わる *OsRSS3* 遺伝子と *OsHDA705* 遺伝子がジベレリン不活性化酵素遺伝子の制御に関わっている可能性を示した。

(4) エピゲノム操作等によるストレス耐性植物のイメージング解析およびバイオマス定量評価解析
乾燥耐性付与に関係するヒストン脱アセチル化酵素 HDA6 の器官特異性および細胞核内の局在について植物透明化手法 TOMEI を使用して解析した。これにより、イネとキャッサバの HDA6 はシロイヌナズナの HDA6 と異なり細胞核内にボディ構造を作らないことがわかった。キャッサバの全体像を回転させながら動画撮影することで、葉柄と本脈の角度から乾燥耐性を定量する手法を開発した。この手法を用いてキャッサバの画像から乾燥耐性を評価することができた。

代表的な原著論文

1. Kim, J.M., To, K.T., Matsui, A., Tanoi, K., Kobayashi, N.I., Matsuda, F., Habu, Y., Ogawa, D., Sakamoto, T., Matsunaga, S., Bashir, K., Rasheed, S., Ando, M., Takeda, H., Kawaura, K., Kusano, M., Fukushima, A., Endo, A.T., Kuromori, T., Ishida, J., Morosawa, T., Tanaka, M., Torii, C., Takebayashi, Y., Sakakibara, H., Ogihara, Y., Saito, K., Shinozaki, K., Devoto, A. and Seki, M. (2017) Acetate-mediated novel survival strategy against drought in plants. *Nature Plants* 3: 17097.
2. Nguyen, H.M., Sako, K., Matsui, A., Suzuki, Y., Mostofa, M.G., Ha, C.V., Tanaka, M., Tran, L.S.P., Habu, Y. and Seki, M. (2017) Ethanol enhances high-salinity stress tolerance by detoxifying reactive oxygen species in *Arabidopsis thaliana* and rice. *Front. Plant Sci.* 8: 1001.
3. Ueda, M., Matsui, A., Tanaka, M., Nakamura, T., Abe, T., Sako, K., Sasaki, T., Kim, J.M., Ito, A., Nishino, N., Shimada, H., Yoshida, M. and Seki, M. (2017) The distinct role of RPD3-like histone deacetylases between class I and II in salinity stress response. *Plant Physiol.* 175:1760-1773.