

「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

H27 年度
実績報告書

関 原明

独立行政法人理化学研究所 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 (農業生物資源研究所農業生物先端ゲノム研究センター、上級研究員)
- 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 9 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) Ky-2 は、ナトリウムイオンの排出に機能する *AtSOS1* 遺伝子の発現を誘導し、耐塩性が強化される(Sako et al. 2016, PCP)。2) 幾つかの *HDAC* 遺伝子の変異体が塩ストレス耐性を示す。3)ある *HDAC* 阻害剤で処理したキャッサバ植物体においても耐塩性が付与される。

(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の分子機構の解明を目指してシロイヌナズナを用いてさらに解析を進め、以下のデータを得た。1)C-14 標識酢酸の根からの吸収実験により酢酸が根から植物体内に取り込まれる。2)酢酸で前処理してから乾燥ストレス処理過程で、多くのストレス耐性関連遺伝子(ジャスモン酸応答性遺伝子など)の発現が増加する。3)シロイヌナズナヒストン脱アセチル化酵素 HDA6 の直接の標的遺伝子である *Pyruvate Decarboxylase 1(PDC1)* および *Acetaldehyde Dehydrogenase 2B7 (ALDH2B7)* 遺伝子を乾燥ストレス誘導性遺伝子プロモーターの下流につないだトランスジェニックシロイヌナズナ植物が乾燥ストレス耐性を示す。

(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

酢酸によるイネ乾燥ストレス耐性獲得の機構解明を目的とした解析を進め、以下の結果を得た。1) 酢酸処理によりジャスモン酸応答経路の複数の遺伝子が活性化されていることが示された。2) 一般に乾燥条件下で誘導される様々な乾燥応答性遺伝子の発現上昇は酢酸処理後の乾燥条件下では検出されなかった。3) 植物体内に取り込まれた酢酸は、導管液ではグルタミンに、根ではγアミノブチル酸に代謝されていることが示された。4) 酢酸処理により誘導される導管液 pH の上昇は酢酸カリウムによっても誘導されたが塩酸によっても誘導されなかった。5) 酢酸による乾燥耐性能は酢酸処理後数日間持続することが示された。

(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
細胞のエピゲノム状態と密接に関係する細胞内外の pH を定量評価するために、GFP と RFP の蛍光強度比から pH を測定する pHusion を用いてライブイメージング解析を実施した。酢酸処理後の根の細胞内外の pH を経時的に測定するために、顕微鏡下で酢酸溶液を添加できるマイクロ

デバイスを開発して研究を進めた。また、環境ストレスによるヒストン修飾変動を経時的に解析するために、修飾特異的細胞内抗体プローブを構築した。このラインを用いて、環境ストレスを付与した後の細胞のヒストン修飾をリアルタイムでイメージング解析した。さらに、バイオマス定量評価解析を可能にする植物器官の透明化イメージングの方法を開発した。

代表的な原著論文:

1. Kaori Sako, Jong-Myong Kim, Akihiro Matsui, Kotaro Nakamura, Maho Tanaka, Makoto Kobayashi, Kazuki Saito, Norikazu Nishino, Miyako Kusano, Teruaki Taji, Minoru Yoshida and Motoaki Seki, "Ky-2, a histone deacetylase inhibitor, enhances high-salinity stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*", *Plant Cell Physiol.* 57: 776-783, 2016 (DOI: 10.1093/pcp/pcv199).
2. Junko Hasegawa, Yoki Sakamoto, Satoru Nakagami, Mitsuhiro Aida, Shinichiro Sawa and Sachihiko Matsunaga, "Three-dimensional imaging of plant organs using a simple and rapid transparency technique", *Plant Cell Physiol.*, 57, 3, pp.462-472, 2016 (DOI: 10.1093/pcp/pcw027).
3. Hisataka Numa, Katsushi Yamaguchi, Shuji Shigenobu, Yoshiki Habu "Gene body CG and CHG methylation and suppression of centromeric CHH methylation are mediated by DECREASE IN DNA METHYLATION1 in rice" *Molecular Plant* 8(10):1560-1562, 2015 (DOI: 10.1016/j.molp.2015.08.002).