

# GB3 植物生産性の増大・地球環境保全のための植物の環境ストレス耐性の分子機構の解明

研究代表者

○ Hans J. Bohnert (アリゾナ大学・アメリカ)

共同研究者

○ 佐藤 文彦 (京都大学・日本)

○ Dorothea Bartels

(マックスプランク研究所・ドイツ)

○ Wolfgang Barz

(ウエストファーリッシュ・ヴィルヘルム大学・ドイツ)

○ 林 秀則 (愛媛大学・日本)

○ 重岡 成 (近畿大学・日本)

研究期間 1995年4月～1998年3月

## 1 研究の概要

地球環境の保全 改善に資する石油代替エネルギーの製造のために太陽エネルギーを固定 利用する方法としては植物の光合成機能を用いた生物生産が実用的である。しかし 乾燥、塩害 温度障害など不可避的な環境ストレスにより植物のもつ最大活性は1/4程度に抑制されている。本研究では極限的なストレス環境条件下でも生存できる植物 細胞を材料とし これら生物の環境ストレス耐性機構を分子生物学 生化学 細胞生物学など多方面から総合的に解析し これを実用植物に導入することにより 環境ストレス下で生育できるように植物を分子育種する。すでに本申請者らは極めて耐塩性の高い *Mesembryanthemum*より糖アルコールの生合成遺伝子を単離するとともにこの遺伝子を導入することにより 糖アルコールを植物細胞中に蓄積させ 高塩条件下でも生育する植物を育成できることを証明している。本研究ではさらにその生合成系の全容を解明する。また 極めて乾燥に強い *Craterostigma*より新規なタンパク質遺伝子を単離し その発現制御ならびにその機能の解析を進めるとともに 光合成のみで生育する光独立栄養培養細胞より耐塩性細胞を単離し その耐性機構の解析を進める。さらに乾燥 塩ストレスは高温、低温、酸素毒性などのストレスと複合的に作用することより これらのストレスに対しても耐性機構を解析し 得られた知見を総合化することにより新しいストレス耐性植物を育成する。



Dr. Bohnert



Dr. Sato



Dr. Bartels



Dr. Barz



Dr. Hayashi



Dr. Shigeoka

## 2 将来への展望

- (1) 極限的ストレス環境下で生存できる耐性植物 細胞の耐性機構の解明
- (2) 環境ストレス下で生育可能な植物の分子育種
- (3) 省資源 低エネルギー投資下での効率的生物生産システム (植物による太陽エネルギー変換利用システム) の基盤の確立 劣悪土壤として放置されていた地域の利用 保全を省資源 (少ない灌漑、少ない肥料 少ない管理作業) にて達成するシステムの開発

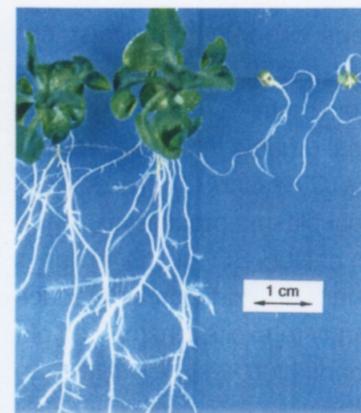


図1 グリシンベタインを蓄積する形質転換シロイヌナズナ (左) は野生株 (右) に比べ、0.1 M NaCl に対して強い耐性を示す (林博士提供)。

Fig. 1 *Arabidopsis* transformed with choline oxidase gene (left) accumulated glycinebetaine and acquired enhanced salt tolerance. (Courtesy of Dr. Hayashi)

# 「光合成のストレス耐性の分子機構」研究概要

Bartels研究室（ドイツ、ケルン、マックスプランク研究所）では復活草植物 *Craterostigma* の乾燥耐性機構を中心に研究がなされた。形質転換植物実験において興味深い遺伝子が複数単離され、解析された。また、遺伝子導入のために有用なLEAたんぱく質（遺伝子）の解析がなされた。

Barz研究室（ドイツ、ミュンスター大学）では、光独立栄養培養細胞を用いて、生物的、非生物的ストレスにたいする耐性が検討された。オスモチン、ソウマチンの過剰発現の効果とともに、潜在的有用性が示唆されるグリシンリッチタンパク質ならびに細胞壁に局在するタンパク質の解析が行われた。また、活性酸素消去と病害抵抗性におけるサイクリトールの効果が検討された。

Bohnert研究室（アメリカ、アリゾナ大学）により、ポリオール生産形質転換植物は耐塩性を増加することが明らかにされた。クロロフィル蛍光や炭酸固定の測定、実験条件であるCO<sub>2</sub>濃度や温度、光強度を変えるなど、より詳細な実験が繰り返された。また、誘導的（オスモチン、テトラサイクリン）、細胞特異的（葉肉細胞）、組織特異的（根、葉）あるいは、オルガネラ特異的（葉緑体）にマンニトール、ソルビトール、あるいはオノニトールを生産する酵素を発現させるコンストラクトが作成された。マンニトールを葉緑体局在とさせる、あるいはオノニトールを細胞質局在とすることにより、以前に勝る防御効果が認められた。形質転換植物の種子が交換され、異なる種アルコール/異なる発現型をもつ植物の交雑が可能になった。また、多重遺伝子導入のための発現ベクターが構築され、現在検討中である。

林研究室（日本、愛媛大学）では、シアノバクテリアと高等植物（大豆培養細胞）を用いて熱ショック耐性が研究された。シアノバクテリアのチラコイド膜の再構成実験により、チラコイド膜の機能における成分の解析がなされた。タンパク質成分の同定と遺伝子の単離が行われた。遺伝子の解析が進められた。また、遺伝子工学によりグリシンペタイン合成をするようになったシアノバクテリアならびに高等植物（アラビドブシス）を用いて、塩ストレス下における光合成機能の保護的効果が示された。また、グリシンペタインを蓄積したアラビドブシスは、低温に対する耐性を増加していることも示された。

佐藤研究室（日本、京都大学）では光合成、特に光化学系の防御にかかるいくつかの道筋が検討された。試験管内実験により、酸素発生系が種アルコールや他の浸透圧調整物質によりある程度防護されることが明かとなった。23kDタンパク質が（多分、活性酸素に）もっとも感受性が高いと考えられ、現在、その過剰発現が試みられている。この研究グループではこれまで研究がほとんどなかった、物理的ストレス条件下における葉緑体遺伝子の発現に関する挑戦的な研究が進められている。

重岡研究室（日本、近畿大学）では、葉緑体における過酸化水素の代謝と活性酸素の消去系に関する研究が行われた。カタラーゼバーオキシダーゼやアスコルビン酸バーオキシダーゼを含むいくつかの酵素（転写産物）がクローニングされた。研究の進展により過酸化水素によってもたらされるストレス感受性の違いは高等植物の葉緑体内におけるチオール酵素の感受性に起因することが示された。大腸菌のカタラーゼ遺伝子を葉緑体において発現させた形質転換植物は葉緑体中のカタラーゼの活性が2-3倍に上昇し、強光と乾燥、あるいはバラコート処理により引き起こされる光酸化的障害に対して抵抗性の増大を示した。この大腸菌カタラーゼを高発現したタバコとBohnert博士の作成したマンニトール生合成酵素を細胞質にもつタバコを掛け合せることにより、さらに光酸化ストレス、塩ストレスに耐性が増大することが明らかとなった。

以上のように、本研究班では複雑な耐塩性ならびに乾燥耐性の機構にたいし、研究者の交流、遺伝子、形質転換植物の交換を始めとした研究協力により、統合的に挑戦した。本研究はまさに応用の段階にあり、さらなる研究助成によりさらに研究が進展するものと考えている。