Shinozaki Research Collaborative Group

2009 ~ 2010

ラボラトリーヘッド Head

**篠崎 一雄** (理博) Kazuo SHINOZAKI, Ph.D.



## 篠崎連携研究グループ(機能開発研究チーム)

Shinozaki Research Collaborative Group

### ミッションと事業概要 Mission

グループでは、温暖化、乾燥化の進む地球環境での安定した農業生産やバイオマス生産を目指し、栽培環境に関わらず生産性を向上させるための有用遺伝子の探索および機能解明を行っている。新規遺伝子の探索にはトランスクリプトームやメタボローム、プロテオーム解析技術などを活用し、逆遺伝学的方法で機能を明らかにしている。また、モデル植物の変異体リソースやゲノムリソースの整備に協力して研究開発を進めている。

This research team is discovering Arabidopsis genes of which functions are linked to quantitative improvements in plants and those with new functions for minimizing the effects of the environmental stresses to achieve maximum productivity. We are exploring new genes involved in improved productivity at the genome level using transcriptome, metabolome or proteome analyses, and are analyzing regulatory factors and signaling factors involved in the control of gene expression. This team has contributed to BRC by collection of Arabidopsis mutant lines and their phenotype analysis.

#### 平成21年度の成果

Reserch and Development in 2009-2010

#### (1) 環境ストレス応答に関わる制御因子、 シグナル伝達因子の探索と解析および 作物への応用

①植物ホルモンアブシジン酸(ABA)のシグナル伝達機構の解析 ABAは、植物の環境応答を制御する重要な植物ホルモンである。しかし、ABAの細胞内シグナル伝達経路は謎に包まれていた。 我々は、ABAのシグナル伝達に関わるタンパク質リン酸化酵素 (SnRK2) およびタンパク質脱リン酸化酵素 (PP2C)について研究を進め、PP2CがSnRK2と複合体を形成していること、PP2Cが脱リン酸化によってSnRK2を不活性化していることなどを証明した。遺伝子破壊株などの解析によって、このPP2C-SnRK2複合体が植物のABAシグナル伝達の中心的な制御モジュールであることを明らかにした(図1)。

#### ②環境ストレス応答に関わる植物ホルモンおよび代謝産物の生 合成、分解系の解析

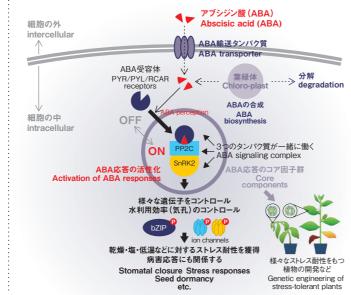
乾燥ストレスやABA 誘導性の遺伝子・代謝産物に関して機能解析を行った。メタボロミクスを用いた手法によって、アミノ酸・糖・二次代謝産物の乾燥ストレスに対する応答に関して、"個々の代謝産物の蓄積量の変化"と"代謝産物間の相関関係"の双方から解析した。

③ストレスシグナルを制御する新規MAPキナーゼカスケードの解析 植物特異的な構造を持つMAPKの一つのMPK8が、傷害ストレス応答においてカルシウムシグナルとリン酸化シグナルのクロスト ークポイントとして機能することを見いだした。またMPK8は活性酸素の蓄積に関わる酵素RbohDを負に制御して、シグナル因子として働く活性酸素の量を、細胞毒性の低いレベルに抑えるための厳密なコントロールに寄与していることを明らかにした。

④遺伝子組み換え技術を利用した乾燥耐性イネ、コムギの開発 不良環境においても減収の回避が図られる作物系統の育成を目 指し、環境ストレス耐性向上が示されている有用遺伝子等をイネ

#### アブシジン酸(ABA)のシグナル伝達機構(図1)

ABA signal transduction pathway (Fig.1)



やコムギなどの作物品種に導入することにより、ストレス耐性作物の開発を行っている。国際農林水産業研究センター、IRRI、CIAT、CIMMYTなど、国際的な農作物研究機関との共同研究により、作製した形質転換植物を実際の使用場面に近い環境の圃場条件下において育成し、乾燥耐性能を評価、選抜している。 ③ダイズゲノムプロジェクトへの貢献

ダイズは、世界的に見ても主要作物の一つであり、タンパク源や油料用に加えて、飼料やバイオ燃料としても利用される。我々は、ダイズの研究リソースを整備する必要性に鑑みて、ダイズ完全長cDNAの大規模なコレクション(約四万)を作製し、ナショナルバイオリソースプロジェクトに寄託した。また、米国エネルギー省が主導するダイズゲノムプロジェクトに参画し、完全長cDNAの情報にもとづいたゲノムの遺伝子領域の決定ならびに機能注釈に協力した。 ⑥ロイヌナズナ変異体リソースの高度化への貢献

シロイヌナズナの遺伝子破壊変異体の表現型解析、遺伝子解析 を進めており、変異体リソースの質の高度化に貢献した。さらに、 シロイヌナズナ新規転写因子cDNAの収集と利用を進めた。

# (1) Exploration and analysis of regulatory factors and signaling factors in environmental stress responses

①Establishment of the core signaling pathway regulated by a phytohormone abscisic acid in plants

Abscisic acid (ABA) is one of major phytohormones, and it has a pivotal role in plants' responses to environmental conditions. We focused on protein phosphorylation as a major signaling system, and investigated a group of type 2C protein phosphatases (PP2C) and SNF1-related protein kinase 2 (SnRK2). We successfully reconstituted the ABA signaling pathway in vitro, using PP2C, SnRK2 and recent identified PYR/PYL/RCAR ABA receptors. We concluded that the major ABA signaling pathway consists of just four steps, as [PYR/PYL/RCAR-PP2C-SnRK2-downstream factors], and the PP2C-SnRK2 complex provides a reversible regulatory module as core components of ABA signaling(Fig.1)

②Transcriptomics and metabolomics to determine the signaling networks in abiotic stress response.

To analyze plant responses to abiotic stress, we analyzed functions of stress-inducible genes and metabolites in drought stress responses. Among them, we focused on genes involved in ABA biosynthesis and metabolism. We used transcriptomics and metabolomics to determine the signaling networks in abiotic stress response.

3 Analysis of novel MAP kinase cascade in ROS signaling.

We revealed that a plant specific MAPK connects protein phosphory lation, Ca<sup>2+</sup> and ROS production in wound signaling pathway. The novel MAPK pathway maintains essential part of ROS homeostasis through negatively regulating the expression of RbohD gene, a key enzyme of ROS production and ROS-related signaling.

④Development of environmental stress resistance wheat and rice. This research project sets as its goal an evaluation of the applicability of various gene constructs in terms of stress

tolerance in the field to contribute to the stability of the world food supply and demand. To achieve this goal, in collaborative research with IRRI, CIAT, and CIMMYT, we are introducing stress-resistant genes connected with appropriate promoters into wheat and rice varieties. The stress tolerance of resultant transformed lines will be evaluated in the field.

5 Contribution to soybean whole-genome project

Soybean is one of the most important crop plants for seed protein and oil content. We contributed to the soybean wholegenome project by collection and sequencing of 40,000 full-length cDNA clones from soybean.

**©**Contribution to BRC by collection of mutant lines and their phenotype analysis.

Using Arabidopsis tagged mutant lines, this team contributed to BRC by systematic analysis of mutant phenotypes. Arabidopsis cDNAs for novel transcription factors were collected for their functional analysis.



グループディレクター Group Director 篠崎 一雄 Kazuo SHINOZAKI, Ph.D.

#### 研究員 Research Scientist

梅澤 泰史 Taishi UMEZAWA, Ph.D. 藤田 美紀 Miki FUJITA, Ph.D. 伊藤 卓也 Takuya ITO, Ph.D.

#### 特別研究員 Postdoctoral Researcher

高橋 史憲 Fuminori TAKAHASHI, Ph.D. 浦野 薫 Kaoru URANO, Ph.D.

**テクニカルスタッフII Technical Staff II** 水門 佐保 Saho MIZUKADO

リサーチアソシエイト Research Associate Babak BEHNAM Ph D

ジュニアリサーチアソシエイト Junior Research Associate 溝口 昌秀 Masahide MIZOGUCHI

#### 派遣職員 Agency Staff

衛藤 美智江 Michie ETO/小林 裕子 Hiroko KOBAYASHI 小澤 久美子 Kumiko OZAWA/正代 初代 Hatsuyo SHODAI 松尾 久美子 Kumiko MATSUO



54 55