

2. マイクロアレイを用いた高等植物の転写因子 DREB1A が制御する環境ストレス耐性遺伝子群の同定

〔要約〕乾燥・塩・低温ストレス耐性が向上した DREB1A 遺伝子組換えシロイヌナズナでは適合溶質合成酵素、解毒酵素、高分子の保護因子である LEA タンパク質等多様な遺伝子が複合的に機能していることが、cDNA マイクロアレイを用いる解析により明らかになる。

国際農林水産業研究センター・生物資源部				連絡先	0298 (38) 6305		
推進会議名	国際農林水産業	専門	バイオテック	対象	モデル植物	分類	研究

〔背景・ねらい〕

近年、砂漠化や土壌の塩類化等地球規模の環境劣化が深刻化している。また、世界各地で異常気象が報告されており、農業生産に大被害を及ぼしている。このため、突然の異常気象や劣悪環境下でも栽培可能な作物や環境保全に役立つ植物を開発することは、国際的に重要な課題となっている。これまでに、環境ストレス耐性の獲得に関与する転写因子の遺伝子を用いた遺伝子組換え技術により、植物に高いストレス耐性を付与できることを示した。この組換え植物中での変化を分子レベルで解析して、獲得されたストレス耐性機構を分子レベルで明らかにするとともに、遺伝子組換え技術の実用化に向けた基礎研究を行う。

〔成果の内容・特徴〕

- シロイヌナズナの 1300 個または 7000 個の完全長 cDNA を用いて、cDNA マイクロアレイを作成する。
- 野生株のシロイヌナズナと DREB1A を過剰発現したストレス耐性な遺伝子組換え植物 (35S:DREB1A) より単離した RNA から、それぞれ Cy5 と Cy3 でラベルして合成した cDNA を用いて、上記 cDNA マイクロアレイとハイブリダイゼーションを行う (図 1)。
- 1300 cDNA マイクロアレイを用いて、12 種の遺伝子が転写因子 DREB のターゲットであることが明らかになった。ノーザン法で解析すると全ての遺伝子が低温・乾燥・塩ストレスによって誘導され、さらに 35S:DREB1A 植物で高発現する。12 種の遺伝子はこれまでに明らかにされているターゲット遺伝子 6 種と今回初めて明らかになった新規の 6 種の遺伝子である (図 2)。
- これらの遺伝子のプロモーター領域を検索すると、配列が不明な 1 種の遺伝子を除き、11 種の遺伝子に転写因子 DREB の結合配列である DRE 配列が存在している。
- 7000 cDNA マイクロアレイを用いて解析すると、さらに 30 種の遺伝子がターゲットとなっている。これらの遺伝子群にはシャペロン、LEA タンパク質、膜輸送タンパク質、転写因子、リン脂質代謝系酵素、解毒酵素等のストレス耐性遺伝子が含まれており、複合的に耐性獲得のために機能している。
- DREB 遺伝子組換え体中では本来植物中でストレス耐性獲得のために働いている遺伝子群が効率よく働くよう変化するため、強い耐性が付与される。

〔成果の活用面・留意点〕

植物の遺伝子を用いた遺伝子組換え技術によって開発される作物の安全性は、バクテリア等の他生物の遺伝子を用いた場合に比較して高いと考えられる。

〔具体的データ〕

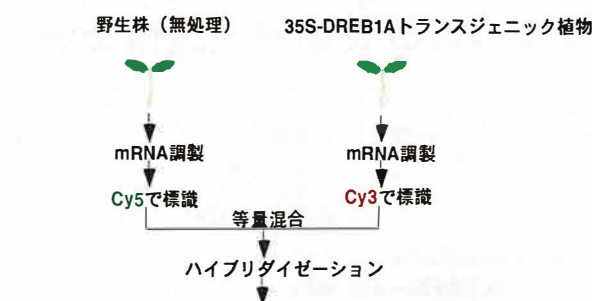
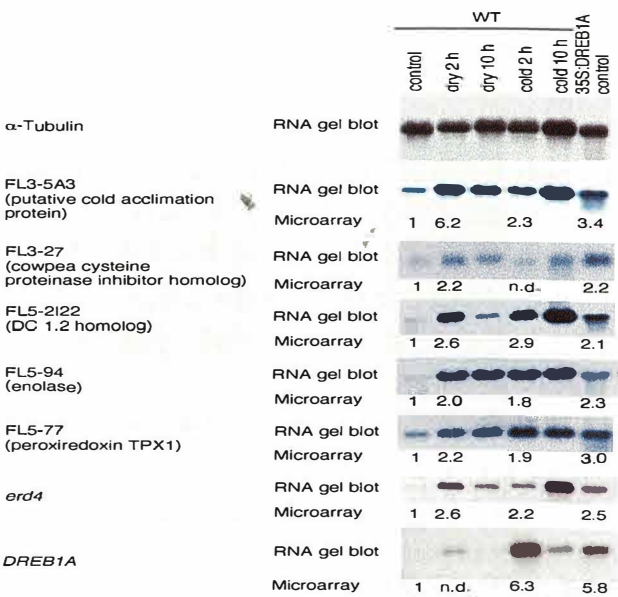


図 1 cDNA マイクロアレイを用いた転写因子 DREB1A によって発現が制御される遺伝子の探索。



図 2 マイクロアレイ法で同定された DREB1A のターゲット遺伝子を用いて、ノーザン法で発現の解析を行い、実際に DREB1A の過剰発現によって発現が誘導されていることを確かめた。新規に同定された 6 種のターゲット遺伝子は、全て乾燥と低温ストレスで誘導された (dry2h, dry10h, cold2h, cold10h)。また、35S:DREB1A 遺伝子組換え体で高発現している (35S:DREB1A control)。数値はマイクロアレイ解析で得られた誘導倍率を示す。



〔その他〕

研究課題名：マイクロアレイを用いた高等植物の転写因子 DREB1A が制御する環境ストレス耐性遺伝子群の同定

予算区分：学会プロ〔形態生理〕

研究期間：2001 年度 (1998 ～ 2003 年度)

研究担当者：篠崎和子・春日美江・圓山恭之進・安部洋・関原明・篠崎一雄

発表論文等：

- 1) Seki, M., Narusaka, M., Abe, H., Kasuga, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., Carninci, P., Hayashizaki, Y. and Shinozaki, K. (2001) : Monitoring the expression pattern of 1300 Arabidopsis genes under drought and cold stresses by using a full-length cDNA microarray. The Plant Cell 13 (1), 61-72.
- 2) Seki, M., Narusaka, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., Carninci, P., Kawai, J., Hayashizaki, Y. and Shinozaki, K. (2001) : Arabidopsis encyclopedia using full-length cDNAs and its application. Plant Physiology and Biochemistry, 39; 211-220.
- 3) Shinozaki K. and Yamaguchi-Shinozaki K. (2000) : Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. Current Opinion in Plant Biology, 3; 217-223.

特許第 3178672 号：環境ストレス耐性植物

特許第 3183458 号：植物の転写因子をコードする遺伝子