

3. イネの環境ストレス誘導性遺伝子の網羅的解析とストレス誘導性プロモーターの単離

[要約] イネの cDNA マイクロアレイ解析によって 73 個の乾燥・塩・低温ストレス誘導性遺伝子が同定される。そのうち 5 種の遺伝子から単離したプロモーターは有効な発現の組織特異性とストレス誘導性を示す。

所属	国際農林水産業研究センター・生物資源部			連絡先	029(838)6305		
推進会議名	国際農林水産業	専門	バイオテック	対象	稲類	分類	研究

[背景・ねらい]

イネはアジア地域の食料を支える重要な穀物であるため、突然の異常気象や環境劣化に備えた品種の開発が重要な課題である。これまでに、モデル植物のシロイヌナズナを用いて、ストレス誘導性の転写因子遺伝子とストレス誘導性プロモーターを用いることで、乾燥・塩・低温ストレスに対して高レベルの耐性を示す植物を作出することに成功している。そこで、シロイヌナズナの研究結果をもとにイネの環境ストレス誘導性遺伝子を解析して、イネの環境ストレス耐性機構で働く重要遺伝子を明らかにする。また、環境ストレス耐性イネの開発に重要なストレス誘導性プロモーターを単離して、その機能を明らかにする。

[成果の概要・特徴]

1. イネから収集した 1727 個の cDNA を鋳型として PCR 法により cDNA 配列を増幅させ、cDNA マイクロアレイを作製した。
2. cDNA マイクロアレイ解析によって、イネの乾燥、塩、低温ストレスあるいはストレス時に働きを示す植物ホルモンのアブシジン酸 (ABA) によって誘導される 141 個の遺伝子を選抜した。
3. 選抜された 141 個のすべての遺伝子に関して、継時的に乾燥、塩、低温ストレスあるいは ABA 処理した植物から調整した RNA を用いてノーザン解析を行い、73 個の遺伝子がストレス誘導性であることを確認した (図 1)。
4. ストレス誘導性の 73 遺伝子を分類すると、51 遺伝子 (70%) はシロイヌナズナでストレス耐性機構に関与することが示されている遺伝子に類似しており、シロイヌナズナとイネの持つストレス耐性機構が類似していることが示された。
5. 同定されたストレス誘導性遺伝子群のうち、応答するストレスの種類が異なりストレス応答が顕著な 5 種の遺伝子のプロモーター領域を単離した。ストレス誘導性を確認するため、これらのプロモーターを GUS リポーター遺伝子と結合してイネに導入した。得られた形質転換体を用いて GUS 活性を測定すると全てのプロモーターでストレスによる活性の上昇が見られ、ストレス誘導性プロモーターであることが確認された。また、組織化学的解析からこれら 5 種のプロモーターは根や葉のどの組織においても発現を誘導することが示された。

[成果の活用面・留意点]

1. イネの乾燥・塩・低温ストレス耐性機構で機能する遺伝子群が網羅的に明らかにされ、環境ストレス耐性イネの開発のための有用遺伝子として利用が図れる。
2. 単離されたイネの乾燥・塩・低温ストレス誘導性プロモーターは環境ストレス耐性作物の開発に利用できる。

[具体的データ]

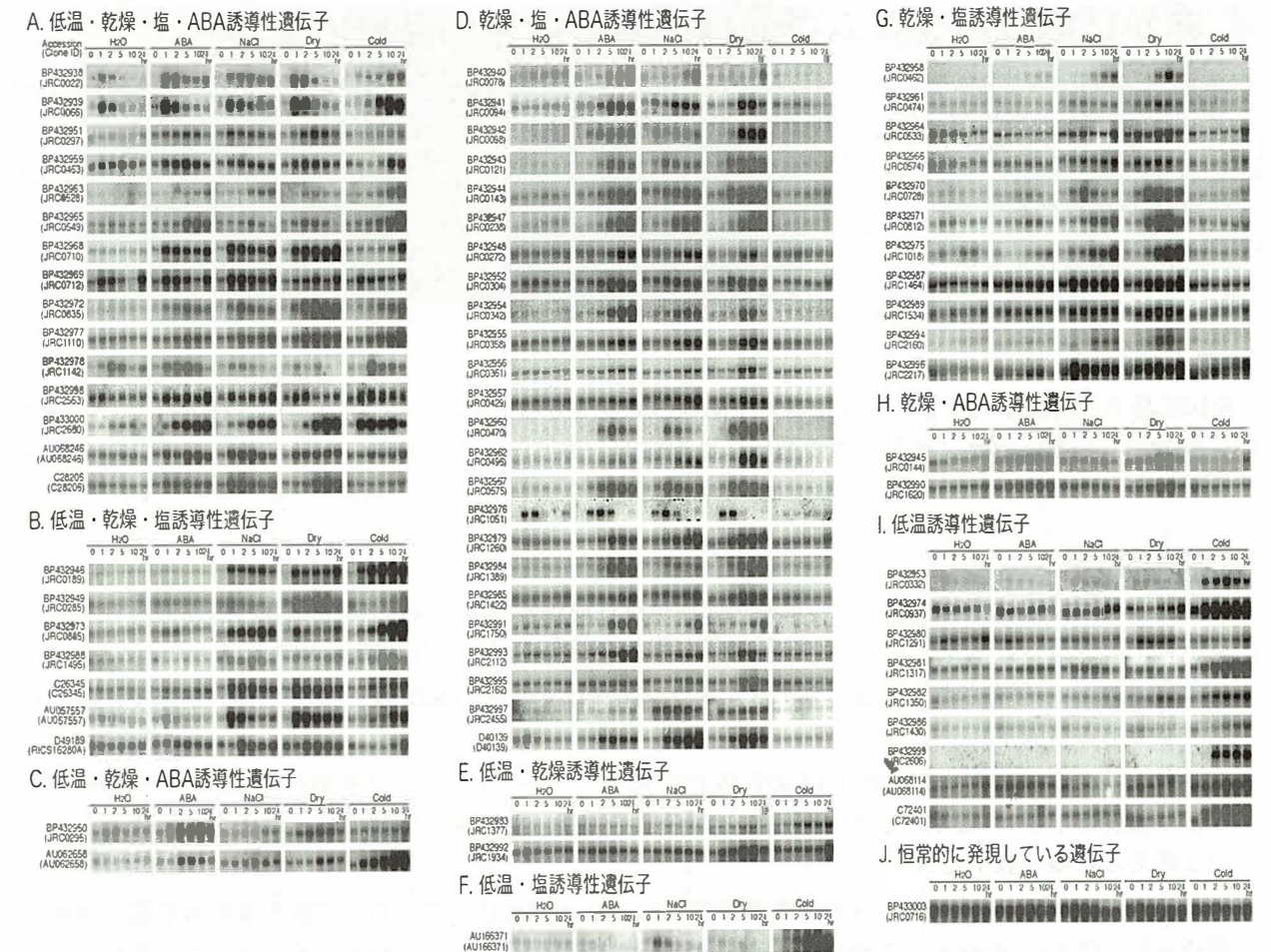


図 1 cDNA マイクロアレイで同定された 73 個のストレス誘導性遺伝子の乾燥 (Dry)・塩 (NaCl)・低温 (Cold)・ABA 処理による継時的発現のノーザン法解析。2 週間栽培したイネを 4 °C の低温ストレス、乾燥ストレス、250 mM の NaCl による塩ストレス、100 μM の ABA 溶液による処理を、それぞれ記載した時間行った。

[その他]

研究課題：環境ストレス耐性遺伝子組み換え作物の開発

予算区分：(生研機構・新事業創出研究開発)

研究期間：2003 年度 (2000 ~ 2004 年度)

研究担当者：篠崎和子、伊藤裕介、桂幸次、圓山恭之進、M. A. Rabbani、J. G. Dubouzet

発表論文等：

- 1) Rabbani, M.A., Maruyama, K., Abe, H., Khan, M.A., Katsura, K., Ito, Y., Yoshiwara, K., Seki, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2003) : Monitoring expression profiles of rice (*Oryza sativa* L.) genes under cold, drought and high-salinity stresses, and ABA application using both cDNA microarray and RNA gel blot analyses. *Plant Physiol.* **133**
- 2) Dubouzet, J.G., Sakuma, Y., Ito, Y., Kasuga, M., Dubouzet, E. G.Miura, S., Seki, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2003) : OsDREB genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression. *Plant J.* **33**, 751-763.
- 3) 特許：篠崎和子、桂幸次、伊藤裕介 (2003) : ストレス誘導性プロモーター及びその製造法 (シス因子 DRE によって制御されるイネの乾燥・塩・低温ストレス誘導性プロモーター)、特願 2003-080847、2003 年 3 月 24 日
- 4) 特許：篠崎和子、桂幸次、伊藤裕介 (2002) : イネのストレス誘導性プロモーター、特願 2002-377316、2002 年 12 月 26 日