

様式7-3

平成20年度 交付金プロジェクト研究課題 終了評価結果

課題名：ポプラ等樹木の完全長cDNA塩基配列情報の充実

主査氏名（所属）：篠原健司（生物工学）

担当部署：生物工学研究領域、森林遺伝研究領域

参画機関：

研究期間：平成18～20年度

1. 目的

「総合科学技術会議分野別推進戦略」や「バイオテクノロジー戦略大綱」では、ゲノム研究・ポストゲノム研究・バイオインフォマティクス（生物情報科学）研究の重要性を指摘している。遺伝子の構造や機能の確定にはゲノムの塩基配列情報だけでは不完全であり、ゲノム上の各遺伝子から発現するmRNA(cDNA)との構造比較が必要である。本研究では、スギ完全長cDNAライブラリーの作製と多数のcDNAの構造解析を進めるとともに、ポプラ完全長cDNA情報の充実に図り、ポストゲノム時代を迎えた樹木研究の進展に貢献することを目的とする。

2. 全期間における研究成果の概要

様々な発達段階のスギの雄花から調製したmRNAを鋳型にして、発現遺伝子の重複が極めて少ないスギ完全長cDNAライブラリーを作製し、最終的に10,463種類の完全長cDNAを収集した。これらの中には既知の花粉アレルゲンと類似している遺伝子、実験植物の雄ずいや花粉で特異的に発現する遺伝子、転写因子の遺伝子等重要な機能を持つ遺伝子が多数含まれていた。さらに、得られたcDNA情報を既知のスギEST情報と共にカタログ化して、森林生物遺伝子データベース（ForestGEN）から公開した。ポプラから19,841種類の完全長cDNAを収集した。この数値は、ポプラゲノムの概要解説から予測される発現遺伝子総数の約40%に相当し、樹木のポストゲノム研究の進展に十分に貢献できるバイオリソースである。また、理化学研究所と共同してポプラ完全長cDNAクローンの配布と塩基配列情報の公開を開始した。さらに、乾燥、高塩濃度、低温及びアブシジン酸の各環境ストレス処理をしたポプラ組織培養体本葉由来のRNAを用い、ポプラDNAマイクロアレイによる網羅的発現解析を行った結果、ストレス処理に応答して発現が変動する2,214種類の遺伝子を同定した。各処理特異的に発現が上昇したものは、乾燥で56種、高塩濃度で329種、低温で49種、アブシジン酸で110種であった。各処理特異的に発現が下降したものは、乾燥で36種、高塩濃度で348種、低温で24種、アブシジン酸で163種であった。複数のストレス処理で共通して発現変動が確認された遺伝子は相当数あった。これらの知見は、樹木の環境ストレス応答の解明にとっての足がかりとなるだけでなく、環境ストレス耐性樹木の作出のための候補遺伝子探索に役立つ。

3. 全年度の発表業績

- 1) Futamura N, Ujino-Ihara T, Nishiguchi M, Kanamori H, Yoshimura K, Sakaguchi M, Shinohara K, Characterization of expressed sequence tags from the pollen of *Cryptomeria japonica*, 8th International Congress of Plant Molecular Biology, Book of Abstracts, 119, 2006.8 (査読無)
- 2) Futamura N, Ujino-Ihara T, Nishiguchi M, Kanamori H, Yoshimura K, Sakaguchi M, Shinohara K, Analysis of expressed sequence tags from *Cryptomeria japonica* pollen reveals novel pollen-specific transcripts, Tree Physiology, 26, 517-528, 2006.12 (査読有)
- 3) Futamura N, Kusunoki Y, Mukai Y, Shinohara K, Characterization of genes for a pollen allergen, Cry j 2, of *Cryptomeria japonica*, International Archives of Allergy and Immunology, 143, 59-68, 2007.4 (査読有)
- 4) Fujimura T, Futamura N, Midoro-Horiuti T, Togawa A, Yasueda H, Saito A, Shinohara K, Masuda K, Kurata K, Sakaguchi M, Isolation and characterization of native Cry j 3 from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen, Allergy, 62, 547-553, 2007.5 (査読有)
- 5) Nanjo T, Sakurai T, Totoki Y, Toyoda A, Nishiguchi M, Futamura N, Igasaki T, Kado T, Seki M, Sakaki Y, Shinozaki K, Shinohara K, Collection and characterization of full-length enriched expressed sequence tags in

Populus nigra, IUFRO Tree Biotechnology 2007 Abstract, SIII.15p, 2007.6 (査読無)

6) Nanjo T, Sakurai T, Totoki Y, Toyoda A, Nishiguchi M, Kado T, Igasaki T, Futamura N, Seki M, Sakaki Y, Shinozaki K, Shinohara K, Functional annotation of 19,841 *Populus nigra* full-length enriched cDNA clones, BMC Genomics, 8, 448, 2007.12 (査読有)

7) Shiokawa T, Yamada S, Futamura N, Osanai K, Murasugi D, Shinohara K, Kawai S, Morohoshi N, Katayama Y, Kajita S, Isolation and functional analysis of the CjNdly gene, a homolog in *Cryptomeria japonica* of *FLORICAULA/LEAFY* genes, Tree Physiology, 28, 21-28, 2008.1 (査読有)

8) Ogura Y, Komatsu A, Zikiyara K, Nanjo T, Tokutomi S, Wada M, Kiyosue T, Blue light diminishes interaction of Per-ARNT-Sim/light, oxygen, or voltage proteins, putative blue light receptors in *Arabidopsis thaliana*, with their interacting partners, J. Plant Research, 121, 97-105, 2008.1 (査読有)

9) 篠原健司、樹木のポストゲノム研究、林木の育種、227, 1-6, 2008.4 (査読無)

10) Futamura N, Totoki Y, Toyoda A, Igasaki T, Nanjo T, Seki M, Sakaki Y, Mari A, Shinozaki K, Shinohara K, Characterization of expressed sequence tags from a full-length enriched cDNA library of *Cryptomeria japonica* male strobili, BMC Genomics, 9, 383, 2008.8 (査読有)

11) 二村典宏、楠城時彦、篠原健司、樹木のゲノム解析の現状と展望—完全長cDNAを用いた遺伝子の機能解析—、北海道の林木育種、51, 28-31, 2008.9 (査読無)

12) Takata N, Saito S, Tanaka-Saito C, Nanjo T, Shinohara K, Uemura M, Molecular phylogeny and expression of poplar circadian clock genes, *LHY1* and *LHY2* New Phytologist, 181, 808-819, 2009.2 (査読有)

4. 評価委員氏名 (所属)

益守眞也 (東京大学大学院農学生命科学研究科・講師)

5. 評価結果の概要

ポプラとスギ雄花の完全長cDNAの大規模収集に成功し、目標値を遙かに上回る発現遺伝子を獲得しており、当初の目標は十分に達成したといえる。また、塩基配列情報は森林生物遺伝子データベース等を通じて公表し、成果の普及に努め、誰でも自由に利用することが可能となった。さらに、DNAマイクロアレイを用いポプラのストレス応答性遺伝子を特定している。研究成果は著名な国際誌に公表されている。また、花粉症対策などの応用的技術開発に資する成果であり、今後の新規の有用遺伝子の探索やDNAマーカー開発等に有効に利用されることを期待する。

6. 評価において指摘された事項への対応

スギ雄花の完全長cDNAは、林野庁事業「遺伝子組換えによる花粉発生制御技術等の開発事業」(イア a 116)の中で、スギの花成制御遺伝子や雄性不稔遺伝子の解明、遺伝子組換え技術による花成制御技術や不稔化技術の開発に利用する。スギの遺伝子情報の収集は今後も進める必要があり、針葉や雌花を対象に完全長cDNAの大規模収集を進める予定である。一方、収集したポプラの完全長cDNAは、交付金プロ「環境保全に貢献するスーパー樹木の創出に向けた基盤技術開発」(イア a 117)等へ活用する予定である。