

ポプラの環境ストレス応答性遺伝子の網羅的発現解析

生物工学研究領域 ストレス応答研究室 楠城 時彦、西口 満
領域長 篠原 健司

背景と目的

樹木の環境ストレス応答機構や耐性機構の解明は、持続的な環境保全を考える上で大変重要な課題です。本研究では、乾燥、高塩濃度や低温等の環境ストレスに対する樹木の分子応答機構を解析するために、DNA マイクロアレイによるポプラ遺伝子の網羅的発現解析を行いました。DNA マイクロアレイを使うと、数万種から数十万種におよぶ遺伝子の発現を一回の実験で解析することができます。本研究では、ポプラの DNA マイクロアレイを使って、環境ストレスを加えた時に発現が変動する遺伝子を 2 千種類以上同定しました。それらの遺伝子群には、高環境ストレス耐性組換え樹木の作出への応用が期待される有用遺伝子候補が多数含まれていました。

成 果

DNA マイクロアレイによる遺伝子発現*の網羅的解析

DNA マイクロアレイは、ガラスやプラスチックなどの基板の上に多数の DNA 断片や合成オリゴヌクレオチドを貼り付けた実験器具で、DNA チップとも呼ばれます。DNA マイクロアレイを使うと、数万種から数十万種におよぶ遺伝子の発現を一回の実験で解析することができます。本研究では、ポプラゲノム上にある遺伝子のほとんどすべてを搭載した DNA マイクロアレイを用いました。

ポプラ（セイヨウハコヤナギ、*Populus nigra* var. *italica*）の葉に、乾燥、高塩濃度、低温やアブシジン酸（ABA）のストレス処理（0、2、10 時間）を加えました。ストレス処理前と処理後の本葉から抽出した RNA を DNA マイクロアレイと反応させることにより、ストレスに応答して発現が変化する遺伝子を解析しました。

ポプラのストレス応答性遺伝子の特定

乾燥、高塩濃度、低温及びアブシジン酸いずれかの処理によって、発現が有意に変動する遺伝子を 2,214 種同定しました。それらのうち、ストレスにより発現レベルが上昇するものが 1,382 種、発現レベルが下降する

ものが 843 種でした（図 1）。また、同一のストレス処理でも処理時間（2、10 時間）により発現変動の上昇と下降が逆転するものが 11 種ありました。特に、ストレスによって発現レベルが上昇する、つまりストレス時に積極的にタンパク質を合成する遺伝子の中には、オリゴ糖やアミノ酸の合成酵素遺伝子、転写因子やプロテインキナーゼなどストレスシグナルの伝達に関わる遺伝子などが含まれていました（表 1）。これらの遺伝子は、いずれも樹木の環境ストレス応答に深く関わっている可能性があります。

本研究で得られた成果は、樹木の環境ストレス応答機構解明の足がかりとなるだけでなく、樹木独自のストレス誘導性プロモーターの開発、環境ストレス耐性遺伝子組換え樹木の開発、さらに耐性品種の DNA 選抜マーカーの開発にも役立ちます。

本研究は、森林総合研究所交付金プロジェクト「ポプラ等樹木の完全長 cDNA 塩基配列情報の充実」により、（独）理化学研究所植物科学研究センターとの共同研究として推進しました。

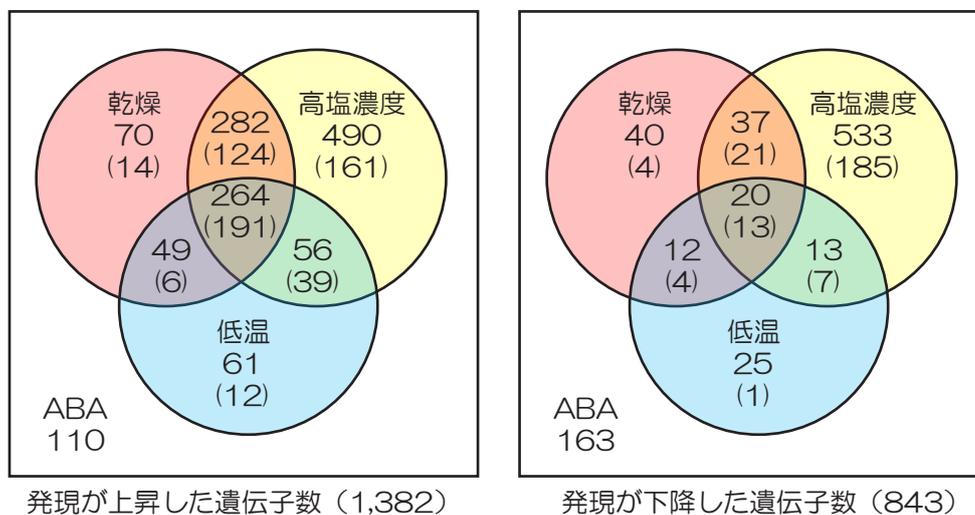


図1 ストレス処理により発現が変動したポプラの遺伝子数

乾燥、高塩濃度、低温、アブシジン酸（ABA）の各処理により発現が変動した遺伝子数。左がストレス処理により発現が上昇した遺伝子グループ、右がストレス処理により発現が下降した遺伝子グループ。括弧内は各処理区のうち ABA 処理による発現変動が見られたもの（内数）を示します。

表1 ストレス処理により発現が上昇したポプラ遺伝子から推定したタンパク質の機能

タンパク質の機能	ストレス処理
オリゴ糖合成酵素	乾燥、高塩濃度、低温、アブシジン酸（ABA）
チトクローム P450	乾燥、高塩濃度、低温、アブシジン酸（ABA）
プロテインキナーゼ	乾燥、高塩濃度、低温、アブシジン酸（ABA）
転写因子（DNA 結合タンパク質）	乾燥、高塩濃度、低温、アブシジン酸（ABA）
水輸送タンパク質	乾燥、高塩濃度
アブシジン酸合成酵素	乾燥
脂肪酸不飽和化酵素	低温
イオン輸送タンパク質	高塩濃度
アミノ酸（プロリン）合成酵素	高塩濃度

* については、巻末の用語解説をご覧ください。