

ブナ葉の高温・乾燥・酸化ストレスに応答する  
 発現遺伝子の網羅的探索  
 ～遺伝子発現情報を利用した樹木診断技術の開発にむけて～

森林資源科学講座 造林学分野  
 山田 幸靖

【序論】森林衰退の原因を簡便で高精度に評価できる手法として、環境ストレスに対する樹木の遺伝子発現情報を利用した樹木診断技術の開発が進められている。遺伝子発現情報の利用とは、生理的役割が明確な遺伝子の発現量 (mRNA量) を指標にして、樹木の環境ストレス応答の評価に活用するものである。遺伝子発現情報を利用するためには、樹木のゲノムが有する数万以上の遺伝子の中から診断指標として利用可能な遺伝子を選抜する必要がある。そのためには、遺伝子の環境ストレス応答特性をゲノム網羅的に解析する必要がある。

本研究では、日本で森林衰退問題を抱える樹種でゲノム研究基盤が整備されているブナを対象にし、環境ストレス要因として高温、乾燥、酸化に注目した。これらの環境ストレスに特異的な発現パターンを示す遺伝子の初期選抜を目的として、ブナ葉に各ストレス処置を施してゲノム網羅的に遺伝子の発現量を調べた。環境ストレスによる発現誘導が示された遺伝子の生理学的な役割を考察すると共に、樹木診断における指標性遺伝子としての利用の可能性を検討した。

【材料と方法】供試木は北海道黒松内町添別ブナ二次林のブナ成木であった。供試葉には樹冠の陽葉を用い、現地で採取後すぐに高温 (34°C)、乾燥、酸化 (200mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) のストレス処置を2時間及び10時間施した。対照にはストレス処置と同時間常温においた葉を用いた。全RNA抽出は改良型CTAB法で行なった。遺伝子の発現量解析にはDNAマイクロアレイ法を用い、42,616遺伝子 (機能推定済み12,446遺伝子を含む) について定量した。発現量の増減の閾値は、5倍と0.2倍として解析を行った。

【結果と考察】各ストレスに対して特異的に発現量を変動させる遺伝子を確認した (図1, 2)。それらの遺伝子の中から、各環境ストレスに対し特徴的な応答を示す代謝経路の遺伝子群が明らかになった。以上のことから、ストレス特異的に発現する遺伝子の初期選抜を行うことができた。これらの遺伝子は、ブナの環境ストレス要因を診断するための指標性遺伝子として有望であると考えられた。また、複数の環境ストレスに共通して発現量を変動させる遺伝子は比較的少なかったことから、環境ストレスの種類によって応答する遺伝子ネットワークが独立して作用していることが示唆された。これは、遺伝子発現情報を利用した樹木診断技術の開発を進めていくにあたって好都合な特徴と言えた。

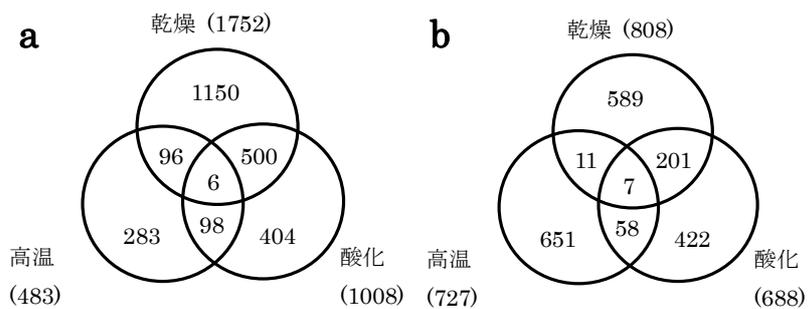


図1. 各ストレス処置によりmRNA量が増加(a)・減少(b)した遺伝子数