

遺伝子発現による植物のストレス診断はどこまで出来るか？

○青野光子¹⁾，三輪誠²⁾，岡崎淳³⁾，武田麻由子⁴⁾，小松宏昭⁴⁾，山神真紀子⁵⁾，中島寛則⁵⁾，岡村祐里子⁵⁾，須田隆一⁶⁾，中村朋史⁶⁾，古川誠⁷⁾，柳沼圭吾⁷⁾，渡邊稔⁷⁾，横山仁⁸⁾，久保明弘¹⁾，佐治光¹⁾

¹⁾ 国立環境研究所，²⁾ 埼玉県環境科学国際センター，³⁾ 千葉県環境研究センター，⁴⁾ 神奈川県環境科学センター，⁵⁾ 名古屋市環境科学調査センター，⁶⁾ 福岡県保健環境研究所，⁷⁾ 福島県環境センター，⁸⁾ 東京都環境科学研究所

【はじめに】オゾンの植生に対する影響を把握するために、親しみやすい園芸植物であると共に鋭敏なオゾンの指標植物であるアサガオを用いて、遺伝子発現によってオゾンストレスを診断する手法の開発を行ってきた。これまでに、野外で生育させたアサガオ葉において、環境中のオゾンに暴露された際の防御系遺伝子の発現誘導が確認され、このストレス診断手法の有効性が示唆されている。現在までに得られたデータから実際のストレス診断への適用について検討している。

【材料と方法】2010年までと同様に、2011年も国環研で系統維持しているアサガオ（品種スカーレットオハラ）の種子を用い、各研究機関の場内で概ね5月中旬から生育させた。6月にオゾンによる可視障害が出現する前の葉（無傷葉）、7、8月にオゾンによる可視障害が出現した直後の葉（被害葉）、及びその際に被害が出現しなかった葉（無被害葉）を採集し試料とした。露地栽培のほか、オープントップチャンバー（OTC：浄化フィルター付（CF）／無（NF）、及び環境濃度の1.5倍オゾン添加）内で栽培した試料も採集した（埼玉県）。試料から抽出したRNAを用いて逆転写反応を行った後、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（PAL）、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）、デヒドロアスコルビン酸レダクターゼ（DHAR）、乾燥耐性遺伝子（DREB）及び対照となるアクチンの各遺伝子の特異プライマーを用いてPCRを行い、それぞれの遺伝子発現量を調べた。PCR産物を電気泳動した後、画像解析ソフトImage Jによる発現量の数値化を行い、アクチンに対する他の遺伝子の相対発現量の値を得た。さらに、無傷葉採取後1日以内に被害葉・無被害葉採取を行った地点では、無傷葉の発現量の平均値に対する被害葉・無被害葉の各遺伝子の発現量の値を得た。

【結果と考察】各防御系遺伝子の相対発現量と葉のオゾン被害状況との関係の例を図1に示す。これまでの結果と合わせ、PALでは高オゾン濃度時の無被害葉での発現が調査年、調査地によらず有意に高いことが示され、PALの発現によるアサガオの野外におけるオゾンストレス診断の有効性が確認された。一方、被害葉では被害の影響により遺伝子発現が却って抑制される場合があると推察された。他の遺伝子では、オゾンによる発現誘導に調査地等の条件によるばらつきがみられ、野外におけるストレス診断に用いるにはオゾン以外の要因も考慮する必要がある可能性が考えられた。

今後は、酸化還元物質であるアスコルビン酸含量の測定と合わせたストレス診断の検討や、遺伝子発現を用いたオゾンストレス診断の他の植物種への適用を行う予定である。さらに、低線量環境放射線の植物影響評価を視野に入れ、このストレス診断法の他のストレス要因への応用をはかりたい。

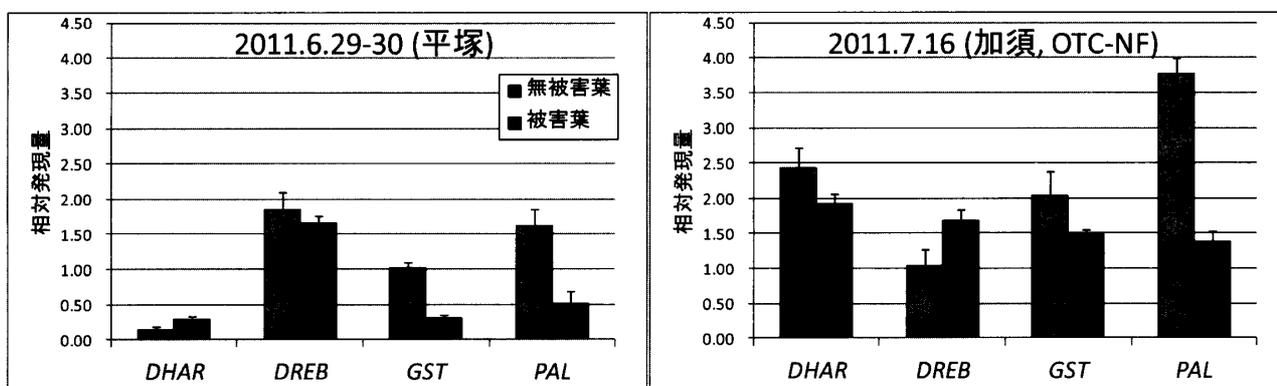


図1 野外アサガオ試料における防御系遺伝子の相対発現量。各地の各遺伝子の無傷葉における発現量の平均値を1とした。加須市の無傷葉はOTC-CFの2試料を用い、その他は全て3試料を用いた。垂直線はSE。