

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

|   |         |  |       |         |               |
|---|---------|--|-------|---------|---------------|
| 研究テーマ<br>(和文) AB  |         | 植物をセンサーとして利用した環境リスクバイオモニタリングシステムの開発  |       |         |               |
| 研究テーマ<br>(欧文) AZ  |         | Development of a bio-monitoring system for assessing environmental risks using plants. |       |         |               |
| 研究氏<br>代表<br>者  | カナ CC   | 姓) ナルサカ  | 名) マリ | 研究期間 B  | 2006 ~ 2008 年 |
|   | 漢字 CB   | 鳴坂   | 真理    | 報告年度 YR | 2008 年        |
|   | ローマ字 CZ | NARUSAKA   | MARI  | 研究機関名   | 岡山県生物科学総合研究所  |
| 研究代表者 CD<br>所属機関・職名   |         | 岡山県生物科学総合研究所 PD 研究員  |       |         |               |
| 概要 EA   |         |  |       |         |               |
| <p>環境リスクを評価するためのバイオセンサー（生物感知器）として植物を利用する方法論を開発することを目的として研究を行った。</p> <p>これまでに遂行した 7K シロイヌナズナマイクロアレイのデータに加え、我々が構築した 1.2K シロイヌナズナマイクロアレイ、及び、市販の DNA マイクロアレイを用いて環境ストレス、生物ストレス、薬剤処理、及び、農薬処理を行い、データを取得した。これらデータを基にして、ストレスにより劇的に発現が変動する遺伝子を抽出し、ストレスのマーカーとしての可否を検討した。その結果、植物が受けたストレスごとにマーカー遺伝子を特定することが困難であること、個々の遺伝子の発現により、植物が受けたストレスを特定することは困難であるとの結論に至った。一方で、様々なストレス下において発現する遺伝子として <i>AtPLA IIA</i>、<i>GST</i>、<i>STZ</i> 遺伝子などが同定された。特に、<i>AtPLA IIA</i> は少なくとも 11 種のストレス及び薬剤処理で発現することから、この遺伝子の発現を植物がストレスを受けた指標として使用できる可能性が示唆された。</p> <p>(環境リスク簡易検定法の開発の試み)</p> <p><i>AtPLA IIA</i> 遺伝子のプロモーター領域を <i>GUS</i> レポーター遺伝子と融合したコンストラクトを作製し、シロイヌナズナに導入した。得られた形質転換植物を 48 ウェルプレートに入れ、農薬などの薬剤を処理し、本遺伝子の発現を <i>GUS</i> 染色により評価した。その結果、シロイヌナズナが受けたストレスの程度により染色が認められ、植物のストレス状態を評価できる系を確立できた。</p> <p>(マイクロアレイによる環境リスクモニタリングキットの開発)</p> <p>前述のアレイ解析により得たデータを分析して環境リスクを評価するために必要な遺伝子を選定し、1.7K シロイヌナズナマイクロアレイを構築した。本アレイにより、環境ストレス（塩害、重金属など）、生物ストレスの分類は可能である。環境リスクの正確な評価のためには、多くのデータの蓄積が必須である。現在、本診断キットによる環境リスク評価の実用化に向けてデータを取得している。</p> |         |  |       |         |               |
| キーワード FA  | 遺伝子診断   | 環境ストレス   | 環境リスク | マイクロアレイ |               |

(以下は記入しないでください。)

|            |  |  |  |  |           |  |  |  |  |  |  |  |  |
|------------|--|--|--|--|-----------|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 助成財団コード TA |  |  |  |  | 研究課題番号 AA |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 研究機関番号 AC  |  |  |  |  | シート番号     |  |  |  |  |  |  |  |  |

| 発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。） |                    |   |                   |                                    |   |   |   |                    |       |
|-----------------------------------|--------------------|---|-------------------|------------------------------------|---|---|---|--------------------|-------|
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> | Comparative analysis of expression profiles of counterpart gene sets between <i>Brassica rapa</i> and <i>Arabidopsis thaliana</i> during fungal pathogen <i>Colletotrichum higginsianum</i> infection |                   |                                    |   |   |   |                    |       |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  | Narusaka, M. et al.   | 雑誌名 <sup>GC</sup> | <i>Plant Biotechnology</i>         |   |   |   |                    |       |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | 503~508   | 発行年 <sup>GE</sup> | 2                                  | 0 | 0 | 6 | 巻号 <sup>GD</sup>   | 23    |
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> | ハクサイ炭疽病および黒すす病に対するプラントアクティベーターの効果と影響  |                   |                                    |   |   |   |                    |       |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  | 鳴坂義弘, 鳴坂真理ら   | 雑誌名 <sup>GC</sup> | 日本農薬学会誌                            |   |   |   |                    |       |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | 196~200   | 発行年 <sup>GE</sup> | 2                                  | 0 | 0 | 8 | 巻号 <sup>GD</sup>   | 33巻2号 |
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> | SigA binding protein coding gene from <i>Arabidopsis</i> appears to be transcriptionally upregulated by salicylic acid and NPR1-dependent mechanisms  |                   |                                    |   |   |   |                    |       |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  | Narusaka, M. et al.   | 雑誌名 <sup>GC</sup> | Journal of General Plant Pathology |   |   |   |                    |       |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | ~   | 発行年 <sup>GE</sup> | 2                                  | 0 | 0 | 8 | 巻号 <sup>GD</sup>   | 印刷中   |
| 図書                                | 著者名 <sup>HA</sup>  |   |                   |                                    |   |   |   |                    |       |
|                                   | 書名 <sup>HC</sup>   |   |                   |                                    |   |   |   |                    |       |
|                                   | 出版者 <sup>HB</sup>  |   | 発行年 <sup>HD</sup> |                                    |   |   |   | 総ページ <sup>HE</sup> |       |
| 図書                                | 著者名 <sup>HA</sup>  |   |                   |                                    |   |   |   |                    |       |
|                                   | 書名 <sup>HC</sup>   |   |                   |                                    |   |   |   |                    |       |
|                                   | 出版者 <sup>HB</sup>  |   | 発行年 <sup>HD</sup> |                                    |   |   |   | 総ページ <sup>HE</sup> |       |

#### 欧文概要 EZ

We examined the transcripts that showed changes among the *Arabidopsis* genes under biotic and abiotic stresses using ca.7K *Arabidopsis* full-length cDNA microarray, ca.1.2K *Arabidopsis* full-length cDNA microarray, and oligo DNA microarray. Expression of *Arabidopsis phospholipase A IIA (AtPLA IIA)* gene was induced by various treatments such as pathogen inoculation (*Alternaria alternata*, *Alternaria brassicicola* and *Colletotrichum higginsianum*), cold, high-salinity, abscisic acid, salicylic acid, methyl jasmonate, ethephon, paraquat, rose bengal, UV-C and CuSO<sub>4</sub>-treatments. The GST and STZ genes were also induced by various treatments. The regulation of *AtPLA IIA* gene expression under biotic and abiotic stresses was analyzed with *AtPLA IIA* promoter region (from +95 to -1,405) fused to the *GUS* reporter gene. In conclusion, the promoter activity is induced under these stresses.

A chimeric gene construct, consisting of *AtPLA IIA* promoter region (from +95 to -1,405) fused to the *GUS* reporter gene, was introduced into *Arabidopsis* by *Agrobacterium*-mediated transformation, and stable transformant lines were obtained. The transgenic *Arabidopsis* plants were exposed to some agricultural chemicals and reagents. In results, GUS activity is induced by these treatments. Especially, the GUS activity was strongly induced by the damage of agricultural chemicals. We succeeded at the development of an easy examination method that can detect environment risks using a reporter-gene-assay.

We tried to develop a diagnostic kit using an *Arabidopsis* microarray. Therefore, we constructed microarray to diagnose environment risks, consisting of 1700 full-length cDNA clones representing putative defense-related and regulatory genes. We have performed cDNA microarray analyses to assess how environment risks affect the expression of stress related genes in *Arabidopsis* plants. The knowledge gained here will enable the development of a new diagnostic kit for environment risks.