

研究サブ・グループ2

形質転換植物を用いたダイオキシン類による汚染環境の バイオモニタリングに関する基礎研究

其木茂則（環境保健学部）

研究目的

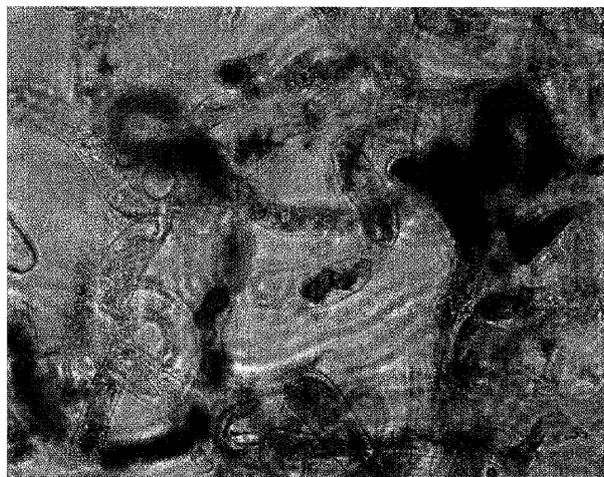
内分泌攪乱作用を持つダイオキシン類による環境汚染が問題になっているが、環境汚染状況の情報は極めて乏しく、よって正確な汚染情報の把握が重要となってくる。現在ダイオキシン類の環境分析には、高価な機器と高度な分析技術を必要とするGC/MSを使用した方法が広く用いられているが、簡便な方法として特異的な植物遺伝子をマーカーとしたダイオキシン類のバイオモニタリングシステム構築を目指して、モデル植物としてシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いて、ダイオキシン類に促進的あるいは抑制的に発現応答する遺伝子の解析を行った。

方法

昨年度までにPCB 126 暴露により発現が促進するグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) 遺伝子 At1g17180 の発現調節領域のクローニングとタバコ培養細胞 BY-2 ゲノムへの導入に成功しているので、実際 PCB 126 暴露によりレポーター遺伝子 GUS, GFP がどのように発現するのか検討を行った。

結果と考察

At1g17180 遺伝子の翻訳開始点から上流域の発現調節領域の全長 (1,367 bp), 及び長さがそれぞれ 932bp, 433 bp の 3 種類の発現調節領域をゲノムに導入した形質転換タバコ培養細胞 BY-2 を用いて、PCB 126 を 5 ng/ml の濃度で暴露した結果、図に示すようにレポーター遺伝子 GUS の発現が確かに確認された。また、長さの違う 3 種類の発現調節領域の内、一番短い 433 bp の領域を導入した形質転換タバコ培養細胞 BY-2 が PCB 126 暴露に対する応答性が強く、さらに PCB 126 暴露後 2 時間でレポーター遺伝子 GUS の発現が観察された。



GUS 発現した形質転換タバコ培養細胞 BY-2 の顕微鏡写真

要 約

シロイヌナズナのグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) 遺伝子 At1g17180 の発現調節領域をゲノムに導入した形質転換タバコ培養細胞 BY-2 を用いて、PCB 126 暴露によるレポーター遺伝子 GUS の発現が初めて確認された。

文 献

- 1) Sonoki, S., Kobayashi, A., Nitta, S., Matsumoto, S., Nagasaka, H., and Hisamatsu, S., 2001. Search for gene(s) responding to the stress of coplanar PCB in *Arabidopsis thaliana* using RT-PCR differential display and DNA chip. *Organohalogen Compounds*. 52, 91-94.
- 2) Sonoki, S., Kobayashi, A., Nagasaka, H., and Hisamatsu, S., 2005. Regulated Gene Expression in Response to the Exposure to Dioxins in *Arabidopsis thaliana*. *Organohalogen Compounds*. 66, 2250-2255.

Research Group 2

“*Studies on biomonitoring of dioxins in the polluted environment using transgenic plants.*”

Shigenori Sonoki (School of Environmental Health)

Abstract: Dioxins such as PCDDs, PCDFs and dioxin-like coplanar PCBs (Co-PCBs) are hard to be decomposed due to their stability and hydrophobic nature, leading to the world-wide contamination. The precise quantitative analysis of pollution levels of dioxins has been performed using a gas chromatograph equipped with the high-resolution mass spectrometry; however, this technique has the disadvantage of a high cost or a highly educated skill. In recent years it has become evident that the expression of several genes in animals was changed in response to dioxins treatment, and then this makes these genes potential candidates for use as the biomarker of exposure to dioxins. This biomarker-monitoring system will be expected to be a good substitution for the instrumental analysis as the first step analysis of dioxins in the environment. Until now, several dioxins-response genes in the genome of *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) had been found. Among them, cytochrome P450 monooxygenases, glutathione S-transferases and peroxidases which were involved in the xenobiotic transformation were found to be up-regulated by the exposure to dioxins. Especially, glutathione S-transferases genes, At1g17180 and At1g78340, had the high response specificity to the exposure time and exposure chemicals. The cloning of promoter region of At1g17180 and At1g78340 with the promoter-analysing vector pBGWFS7.0 and the introduction of promoter region into the genome of *Nicotiana tabacum* BY-2 (cultured tobacco cell) has been successfully completed. In this study, the expression of reporter gene GUS in the At1g17180 promoter region introduced tobacco cultured cell was first observed in the response to the exposure to PCB126.