

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

平成16年度までに詳しく解析された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) 遺伝子の中から、特に発現変動が顕著なAt1g17180およびAt1g78340について、それぞれのプロモーター領域をプロモーター解析用ベクターpBGWFS7.0にクローニングし、*Agrobacterium tumefaciens* 感染系を用いてタバコ培養細胞BY-2ゲノムへ導入を試みた。

結果と考察

At1g17180 遺伝子プロモーター領域のタバコ培養細胞BY-2ゲノムへの導入を試み、プロモーター解析用ベクターpBGWFS7.0の有する除草剤BASTA耐性を指標に数個体の形質転換体が得られた。さらに、それぞれの形質転換体において、プロモーター解析用ベクターpBGWFS7.0の有するレポーター遺伝子GUS、GFPおよびプロモーター領域のゲノムへの導入がPCR法で確認できた。

要約

At1g17180 および At1g78340 の GST 遺伝子の内、レポーター遺伝子 GUS、GFP を有する At1g17180 遺伝子プロモーター領域のタバコ培養細胞 BY-2 ゲノムへの導入に成功した。

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. In this study, 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) were tried. As a result the promoter region of At1g17180 was successfully introduced into the tobacco cell, and the introduction was confirmed with PCR.