

形質転換技術を利用した外来機能性タンパク質を 種子に蓄積するダイズの作出に関する研究

植物育種科学講座 植物遺伝資源学分野
中村 賢太郎

(背景と目的)

ダイズ(*Glycine max* (L) Merr.)は油糧や食用作物としてだけでなく、工業的利用が可能な作物としても広く栽培されている。その為、これまで用途に応じた様々な育種が行われてきている。近年では、形質転換技術を利用したダイズの遺伝的改良も精力的に行われており、ダイズゲノムの解読終了に伴い、更なるダイズ形質転換技術の利用が広がることが期待されている。本技術は、主要な可食部である種子の成分改変に関する研究にも広く積極的に取り入れられている。特に、ダイズは「畑の肉」と呼ばれるほど、種子に大量のタンパク質を含有している(完熟種子で約40%)ことから、ダイズを外来タンパク質の合成及び蓄積の場、すなわちバイオリクターとして利用することも考えられている。本研究は、最初にダイズの種子組織において特異的に遺伝子発現の制御を行うことが可能なプロモーターの解析を行った。次に、実際にダイズ種子に蓄積させる外来タンパク質として、タバコのオスモチンタンパク質に注目した。オスモチンは、Narashimhan et al. (2005)により、哺乳類の生活習慣病改善効果を持つサイトカイン(脂肪細胞由来のペプチドホルモン)の一つであるアディポネクチンと立体構造が類似することが報告されており、同じ受容体に認識され、細胞内の脂質及び糖代謝経路を活性化することが報告されている。そこで、外来遺伝子を種子組織において強発現できるプロモーターを用いて、ダイズ種子にオスモチンタンパク質を蓄積する、ヒトの健康増進機能を付与したダイズの作出を試みた。

(方法)

ダイズ貯蔵タンパク質 11S グロブリン A1aB1b サブユニット遺伝子のプロモーター領域約1,100 bp(以降11Sプロモーターと記す。)の下流にレポーター遺伝子である *intron GUS* を結合させ、アラビドプシスにおける11Sプロモーターによる外来遺伝子の発現制御様式をGUS染色により解析した。続いて、ダイズにおいて同様に形質転換体の作出を行った。得られた形質転換体を自殖し、導入遺伝子の固定化を行った個体について11Sプロモーターによる外来遺伝子の発現制御をGUS染色及びGUS活性測定を通して詳細に解析した。加えて、11Sプロモーターの下流にタバコのオスモチンタンパク質をコードする遺伝子を繋ぎ、オスモチン遺伝子を導入したダイズ形質転換体の作出を試みた。

(結果及び考察)

アラビドプシス形質転換体におけるGUS染色の結果、11Sプロモーターは種子特異的な遺伝子発現の制御が可能であることが分かった。一方、ダイズ形質転換体における解析結果から、種子組織において極めて高いGUSタンパク質の存在が確認されたことに加え、茎頂部、葉、根組織においてもGUSタンパク質の存在が確認された。そこで、内在の11SグロブリンA1aB1bサブユニットタンパク質遺伝子の発現様式をRT-PCRで確認したところ、形質転換体の解析を通じた11Sプロモーターの遺伝子制御様式と酷似していることが分かった。以上の解析結果から、本研究に用いた11Sプロモーター領域は、種子組織において外来遺伝子を強発現制御するのに十分な長さであることが確認できた。また、11Sプロモーターの制御下にあるタバコのオスモチンタンパク質遺伝子を導入した形質転換体のゲノミックPCRの結果から、独立した5系統の形質転換第1世代を得ることができた。