

カロテノイド酸化開裂酵素遺伝子の機能解析と その発現制御によるゴールドendizの作出

植物育種科学講座 植物遺伝資源学分野
早瀬健彦

【背景と目的】

近年、機能性成分の 1 つとしてカロテノイドが注目されており、様々な高等植物において高カロテノイド化が進められている。ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) は脂質、タンパク質及び種々の機能性成分を豊富に含有しており、高カロテノイド化が実現すれば、さらなる高付加価値をもたらすことが可能になる。これまでの研究報告から、カロテノイドの蓄積に **carotenoid cleavage dioxygenase (CCD)** が深く関わっていることが示唆されている。そこで本研究では、ダイズの CCD ホモログ、*GmCCD1* 及び *GmCCD4* 遺伝子を単離し、それらの機能解析を行うとともに、*GmCCD1* 及び *GmCCD4* 遺伝子の発現を種子特異的に抑制した形質転換ダイズを作出し、ダイズ種子の高カロテノイド化を目指した。

【方法】

GmCCD1a、*GmCCD1b*及び*GmCCD4*の3種の組換えタンパク質を用いて、種々のカロテノイドを産生する大腸菌を用いた*in vivo*及び*in vitro*における活性測定を行った。加えてRNAiにより*GmCCD1*及び*GmCCD4*遺伝子の発現を種子特異的にそれぞれ抑制した形質転換体を作成し、siRNAの検出、*GmCCD1*及び*GmCCD4*遺伝子の発現解析及び高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による種々のカロテノイド成分分析を行った。

【結果及び考察】

GmCCD1a、*GmCCD1b* 及び *GmCCD4* 組換えタンパク質が複数のカロテノイドを基質とすることが明らかになった。加えて *GmCCD1a* 及び *GmCCD1b* 組換えタンパク質は、基質特異性及び比活性に違いがあることが明らかになった。これは、*GmCCD1a*、*GmCCD1b* 及び *GmCCD4* 遺伝子の発現を種子特異的に抑制することで、ダイズ種子におけるカロテノイド含量の増強が可能であることを強く支持する結果となった。

GmCCD1 及び *GmCCD4* 遺伝子の発現を種子特異的にそれぞれ抑制した形質転換体において、それぞれの遺伝子の mRNA に相同な siRNA が検出され、それぞれの遺伝子の発現量の低下が確認された。加えて HPLC 分析の結果から総カロテノイド含量が増大し、その増大は主としてルテイン含量の増大によるものであることが明らかになった。この結果から、種子特異的に CCD 遺伝子の発現を抑制することで高カロテノイド含有ダイズすなわち、ゴールドendizの作出が可能であることが明らかになった。