

## 形質転換による新特性作物創成の展望

誌名	農業技術
ISSN	03888479
著者	原田, 久也
巻/号	45巻8号
掲載ページ	p. 348-354
発行年月	1990年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# 形質転換による新特性作物創成の展望

原 田 久 也

## はじめに

近年における衣食住に対する多様な需要に対応するために農作物においても画期的な技術の開発が望まれている。そのひとつが形質転換による新特性作物の作出である。植物の形質転換手法を中心としたすぐれた解説書は多いので、ここでは今までに報告されている形質転換植物を概観し、今後の問題点と展望についてまとめてみた。誌面の都合で引用文献は最少限にとどめたので、原論文の多くは文献1), 2) を参照していただきたい。形質転換植物の野外試験については文献3) によくまとめられている。

## 1. 有用遺伝子の導入

農業上有用な遺伝子を導入して広義のストレス耐性

植物を作出した例を第1表に示した。

非選択性の除草剤に耐性の作物が得られれば、除草剤を施用して雑草のみを選択的に除くことができる。残留性がなく、環境汚染源にならない除草剤は意義のあることである。除草剤耐性を得るためには除草剤のターゲットとなる酵素の量や感受性を変える方法と、除草剤を無毒化する酵素を導入する方法がある。

*Bacillus thuringiensis* は孢子形成期に $\delta$ -エンドトキシンという殺虫活性のあるタンパク質を合成する。 $\delta$ -エンドトキシンは単一のポリペプチドで、昆虫体内でプロテアーゼにより分解され、より低分子の毒性のあるポリペプチドを生じる。このポリペプチドは感受性の昆虫の中腸上皮細胞のイオン輸送の機能を破壊する。 $\delta$ -エンドトキシンは細菌の系統ごとに殺虫活性が異なり、鱗翅目、双翅目、鞘翅目昆虫の幼虫に特

第1表 実用的な形質転換植物の例

除草剤耐性	グリフォセート	[芳香族アミノ酸合成に関わる 5-eno1pyruvylshikimate-3 phosphate synthase (ESPS) の活性を阻害]
	タバコ	<i>Salmonella typhimurium</i> のグリフォセート耐性の ESPS 遺伝子
	ペチュニア	強力なプロモータにより ESPS を過剰生産
	ダイズ	ペチュニアのグリフォセート耐性の ESPS 遺伝子
スルフォニルウレア		[分岐型アミノ酸合成酵素である acetolactate synthase (ALS) を阻害]
	タバコ	シロイヌナズナのアミノ酸1コを置換した ALS 遺伝子
フォスフィントライシン		[glutamine synthetase (GS) を阻害し、アンモニアを集積させる]
	タバコ, ジャガイモ	<i>Streptomyces hygroscopicus</i> の phosphinothricin acetyl transferase (PAT) 遺伝子による無毒化
	トマト	
プロモキシニル		[光合成の電子伝達系を阻害]
	タバコ	<i>Klebsiella ozaenae</i> の nitrilase による毒性低下
アトラジン		[光化学系IIのキノンQ <sub>B</sub> に結合し電子伝達系を阻害]
	タバコ	<i>Amaranthus hybridus</i> のアトラジン耐性の <i>psbA</i> 遺伝子を <i>rbcS</i> のトランジットペプチドをコードする配列に結合
2, 4-D		[植物中の正常なオーキシシン作用を攪乱する]
	タバコ	<i>Alcaligenes eutrophus</i> の 2, 4-D monooxygenase 遺伝子による分解
耐虫性	鱗翅目昆虫	タバコ, トマト, ワタ <i>Bacillus thuringiensis</i> の $\delta$ エンドトキシンの遺伝子
	タバコガ	タバコ ササゲのトリプシンインヒビターの遺伝子
耐病性	タバコモザイクウイルス	タバコ, トマト ウィルスの外被タンパク質遺伝子
		タバコ 弱毒株の全長 cDNA
	アルファルファモザイクウイルス	タバコ, トマト 外被タンパク質遺伝子
	キュウリモザイクウイルス	タバコ 外被タンパク質遺伝子
		タバコ サテライト RNA の cDNA
	ポテトXウイルス, Yウイルス	ジャガイモ 外被タンパク質遺伝子
	タバコラトルウイルス	タバコ 外被タンパク質遺伝子
	タバコ野火病	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i> のタブトキシシンを不活性化するアセチル化酵素の遺伝子

異的な殺虫スペクトラムを示す。

ササゲの種子中のトリプシンインヒビターはヨツモンマメゾウムシ幼虫の生育を阻害するほか、広い範囲の昆虫に生育阻害効果がある。最近インゲンマメの種子の $\alpha$ -アミラーゼインヒビターがアズキゾウムシ幼虫の生育を阻害することが報告されている。

ウィルスの外被タンパク質遺伝子によるウィルス耐性は外被タンパク質がウィルスの脱外被を阻害するためであると言われている。ウィルス耐性はその他サテライト RNA の cDNA、弱毒株の全 cDNA を導入して成功した例がある。アンチセンス RNA (特定の遺伝子の mRNA に相補的な RNA でその遺伝子がコードするタンパク質の合成を阻害する) がウィルス複製を効果的に抑制したという報告はなかったが、最近 CMV の 3A タンパク質 (ウィルスの細胞間移行に関与する) のアンチセンス RNA の cDNA をタバコに導入し、CMV 抵抗性個体が得られたということである。

作物の病害はウィルスよりも、むしろ糸状菌や細菌によるものが多いが、今までのところ、形質転換により耐性作物が得られているのはわずかである。安西と米山<sup>4)</sup> はタバコ野火病の病原菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* の生産する毒素タブトキシンを不活性化するアセチル化酵素の遺伝子を病原菌自身からクローニングし、タバコに導入して、タバコ野火病抵抗性個体を得た。この手法は毒素が主原因である他の糸状菌病、細菌病に応用することが可能であろう。

この他、糸状菌の細胞壁構成成分であるキチンを分解するキチナーゼ、昆虫の抗菌性物質であるタンパク質、ペプチド (セクロピア蚕のライソゾーム、セクロピン、アタシン、センチクバエのザルコトキシム、ザルベシン、ミツバチのアピデシン等) を利用することが検討されている。

## 2. 形質転換作物の作出に必要な今後の研究

### 1) 有用遺伝子の単離

形質転換作物を得るために最も重要なことは有用遺伝子の単離である。植物に存在する遺伝子の単離のため、その遺伝子の産物であるタンパク質や mRNA を同定することから進める方法がある。そのために生化学的に物質を追求するやり方と同質遺伝子系統等を利用して、プロテインマッピングやサブトラクション法等で候補を絞っていくやり方がある。後者は未だ技術的に問題点が残されているが、生化学的な手法が困難な時に利用できる場合が多いと思われるので、その手

法の確立が望まれている。遺伝子単離のための他の有効な手段は遺伝子そのものを他の DNA を目印にして単離することで、ひとつはトランスポゾンや T-DNA の挿入による変異を利用する手法であり、もうひとつは RFLP 連鎖地図を利用して、RFLP マーカーからクロモソームウォーキングをおこなうことである。前者についてはトウモロコシで多くの成功例があるが、後者についてはゲノム中に反復配列の少ないアラビドプシスで成功に近づきつつある新しい方法で、多くの技術的な問題点が残されている。

微生物や動物の遺伝子を利用することが有効なこともあるが、植物の多くの有用遺伝子はまだ単離されていないため、その機能の分子レベルでの解析が進まず、有効な利用が図られていない。そのため上で述べた遺伝子の単離法の確立と適用が必要である。

### 2) 遺伝子導入法の改良

プロトプラストからの再分化が困難な作物も多いが、生長点を含む組織に直接遺伝子を導入するのに使える手法がパーティクルガンである。パーティクルガンはタングステンや金の微小球に DNA を沈着させ、高速で細胞や組織に打ち込む方法である。コーネル大学で最初に作られた装置では微小球を加速するために火薬が用いられたが、現在ではその他に放電プラズマ、圧縮空気、機械的な力等を利用したパーティクルガンが試作され、種々改良が加えられている。直接導入法としてはレーザーマイクロインジェクションも注目される。

花粉管を利用して遺伝子を導入したり、乾燥種子を DNA 溶液に浸漬する方法は培養という操作が全く必要でないという意味でより簡便な方法であるが、再現性に問題があり、更に検討が必要であろう。

イネ科作物に使える遺伝子導入のためのベクター、複数の遺伝子を導入することのできるベクター、染色体 DNA の特定部位に導入する手法等の開発も必要である。

### 3) 遺伝子の発現調節に関与する要因の解析

これまでに作出された形質転換植物では導入された遺伝子が全組織で、常に(構造的に)発現できるような構成になっているものが多い。このような状態は作物にストレスを与え、実用段階で問題が起こるかも知れない。遺伝子の発現にはその遺伝子のシス調節領域が関与し、発現量を高めたり、組織特異性や発育時期特異性を決めたり、外来からの刺激(光、熱、低温、傷害、接触、嫌気条件、栄養、ホルモン、ウィルス感染、エリシター等)に応答することがわかってきた。シス

調節領域は、遺伝子の転写解読枠に隣接して存在する、類似の遺伝子間で保存されている領域であることが多いが、それを解析するためにレポータ遺伝子を用いた形質転換植物を利用することがきわめて有効である。多くの場合組織特異性と発育時期特異性を分離することが困難のようである。第2表に組織特異的に発現する遺伝子、第3表に誘導刺激により発現する遺伝子を各々例示してある。

第2表 形質転換植物で組織特異的に発現する遺伝子 (Benfey and Chua (1989)より改変)

遺 伝 子	由来植物	導入植物	器官/組織
rbcs	エンドウ	タバコ	緑色組織
rbcs	エンドウ	ベチュニア	緑色組織
rbcs	<i>N. plumba</i>	<i>N. plumba</i> , ベチュニア, タバコ	緑色組織
Cab	エンドウ	タバコ	緑色組織
Cab	コムギ	タバコ	緑色組織
ST-LS1	ジャガイモ	タバコ	緑色組織
パタチン	ジャガイモ	ジャガイモ	塊茎
レグヘモグロビン	ダイズ	ミヤコグサ	根粒
ノデュリンN23	ダイズ	ミヤコグサ, <i>Trifolium</i>	根粒
βファゼオリン	インゲンマメ	タバコ	種子
β-コングリニシンαサブユニット	ダイズ	ベチュニア	種子
β-コングリニシンβサブユニット	ダイズ	タバコ	種子
レクチン	ダイズ	タバコ	種子+根
レクチン	インゲンマメ	タバコ	種子
グルテニン	コムギ	タバコ	種子
ホルテイン	オオムギ	タバコ	種子
ゼイン	トウモロコシ	タバコ	種子
レグミン	エンドウ	<i>N. plumba</i>	種子
EPSP 合成酵素	ベチュニア	ベチュニア	花
		タバコ	花粉

rbcs: リブロースビスリン酸カルボキシラーゼ小サブユニット Cab: クロロフィル a/b 結合タンパク質 EPSP: 5-エノールピルピルシキミ酸 3-リン酸 *N. plumba*: *Nicotiana plumbaginifolia*

第3表 形質転換植物で誘導刺激により発現する遺伝子 (Benfey and Chua (1989)より改変)

遺伝子	由来植物	導入植物	誘導刺激
rbS	エンドウ	タバコ	光
rbS	エンドウ	ベチュニア	光
rbS	<i>N. plumba</i>	<i>N. plumba</i> , ベチュニア, タバコ	光
rbS	ダイズ	ベチュニア	光
Cab	エンドウ	タバコ	光
Cab	コムギ	タバコ	光
Cab	<i>N. plumba</i>	タバコ	光
CHS	<i>A. majus</i>	タバコ	光
ST-LS1	ジャガイモ	タバコ	光
Hsp	トウモロコシ	ベチュニア	熱
Hsp	ダイズ	タバコ	熱
ADH	トウモロコシ	タバコ	嫌気ストレス
プロテアーゼインヒビター	ジャガイモ	タバコ	傷害
Cab	コムギ	タバコ	概日周期

CHS: カルコン合成酵素 Hsp: 熱ショックタンパク質 ADH: アルコール脱水素酵素 *A. majus*: *Antirrhinum majus*

一方シス調節領域の塩基配列を認識し、遺伝子の転写を制御するトランス制御タンパク質の解析も進みつつある。コムギヒストンH<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>遺伝子の上流にあるヘキサマー配列に特異的に結合するHBP-1aとHBP-1b, ノナー配列に結合するHBP-2やエンドウマメのリブロースビスリン酸カルボキシラーゼ小サブユニット遺伝群のうちrbcs-3A遺伝子の上流にあるボックスII, IIIに結合する因子GT-1等がよく解析されて

いる。トランス制御タンパク質のcDNAも単離され始めている。また、従来から調節遺伝子と認識されているアントシアン生合成系の酵素の発現を制御する遺伝子 *Cl*, *Lc* や貯蔵タンパク質ゼインの22KDサブユニット遺伝子の発現を制御する *o2* 座の遺伝子も単離された。

今後はシス調節領域、トランス制御タンパク質とその遺伝子が多くの有用遺伝子についても解析され、単離されるようになり、遺伝子の発現調節が分子レベルで理解できるようになるであろう。これからの形質転

換による有用作物作出に当たってはどの組織(細胞)でどの時期にどの程度、導入遺伝子を発現させるかを制御するために、その遺伝子のシス調節領域と調節遺伝子を同時に考慮する必要がある。

4) 特定遺伝子の発現の抑制

有用遺伝子を導入しても、本来存在している遺伝子のために効果がなかったり、弱められたりすることが考えられる。その場合には本来存在している遺伝子の発現を抑制する必要も出てくるであろう。植物が持っている物質で、作物として利用する際に不都合なもの(例えば種子のトリブシンインヒビター等)は植物の生存に影響しなければその遺伝子の発現を抑制することが望ましい。また植物病原体に対する耐性をつけるために植物病原体の特定遺伝子の発現

を抑制する遺伝子を植物に導入することも考えられる。

特定遺伝子の発現の抑制のために、現在までに使われているのは前述のアンチセンス RNA である。植物でもウイルス耐性以外にいくつかの成功例があり、今後も利用されて行くであろう。アンチセンス RNA がタンパク質の合成を阻害する機構を解明できれば、より効果の大きいアンチセンス RNA を作出することができるはずである。自然界に存在する RNA 分子のあるもの(ウィロイド RNA やウイルスのサテライト RNA) は自分自身を切断する性質を持っている。そのために必要な構造が明らかにされ、特定の RNA 中の配列 GUC の 3' 側で切断する RNA をデザインすることが可能となった。この RNA は酵素機能を持つ RNA という意味でリボザイムと呼ばれている。mRNA が GUC の配列を持てば(統計的にほとんどすべての mRNA に存在する)それを特異的に切断することができるので、結果的に特定の遺伝子の発現を抑制することになる。リボザイムを利用した形質転換植物の報告はまだないが、今後有望な手法になると思われる。もうひとつの重要な技術は部位特異的な相同組み換えである。これは特定の遺伝子の発現を抑制するだけでなく、形質転換のために最も重要な技術であるが、実用化のためには、まだ多くの研究が必要である。

#### 5) 導入遺伝子の安全性評価

遺伝子導入のための選抜マーカーとして使われている微生物由来の抗生物質耐性遺伝子は、生体系への影響、形質転換植物を食品や飼料として利用する際の安全性等問題が起こる可能性があるため、これに代えて植物の持っている除草剤耐性遺伝子や色素形成に関与する優性の遺伝子等の利用を考える必要がある。また *Bacillus thuringiensis* の毒素タンパク質、微生物由来の除草剤分解酵素遺伝子、昆虫の抗菌性物質、機能性ペプチド等の安全性についても十分な評価が必要であろう。

### 3. 今後期待される形質転換植物

#### (1) ストレス耐性植物

耐病性、耐虫性植物を形質転換により作出するためには病原菌や昆虫と植物の相互作用についての生化学的、分子生物学的な研究が必要である。糸状菌のエリクターやサップレッサと植物のフェニルプロパノイド代謝の鍵となる酵素(フェニルアラニンアンモニアリアーゼやカルコン合成酵素)の遺伝子活性化との関連、細菌の非病原性遺伝子の単離等の研究は注目さ

れる。基礎的な研究から、今までにない耐病性のための遺伝子操作の戦略が生まれるのではないかと思う。昆虫についてはウンカやカメムシのような吸汁性のものである耐性機構の解明、耐性に関与する物質の検索が特に重要である。一方では遺伝的に確認されている耐病性、耐虫性遺伝子を単離して、その機能を解明することも、困難ではあるが可能な条件が整ってきている。

耐冷性、耐塩性、耐旱性等の環境耐性についてはその生化学的機作の解明があまり進んでいないので、形質転換による耐性植物の作出は時間がかかりそうである。村田ら<sup>5)</sup>は葉緑体に存在する膜脂質ホスファチジルグリセロール(PG)の分子組成に低温耐性と感受性の植物間で差があり、前者の方が相転移温度の低い分子種を多量に含むことを示した。脂質の相転移温度は脂肪酸の不飽和度で決まり、リン脂質の2つのアシル基の中に cis-二重結合があれば相転移温度は低くなる。彼等は PG の合成の初期の段階でグリセロール骨格の1位に脂肪酸を結合させる酵素グリセロール3リン酸アシルトランスフェラーゼ(AT)の基質特異性の差異がリン脂質の不飽和度を左右することを示した。彼等はラン藻の PG の不飽和度を上げることで耐冷性をつけることにも成功しており、高等植物に PG の不飽和度を上げるような AT の遺伝子を導入することを次の目標にしている。

#### 2) 光合成、窒素固定等の生理的機能の向上

光合成機能の向上のためのターゲットは光呼吸の抑制、C<sub>3</sub>型光合成のC<sub>4</sub>型光合成への変換である。トウモロコシからC<sub>4</sub>回路に必要な酵素遺伝子が単離され、C<sub>3</sub>型であるイネにも類似の遺伝子が存在することが確認された。C<sub>4</sub>回路関連酵素の遺伝子の発現調節と葉内構造に関与する遺伝子に焦点が絞られてきたようである。目標は遠いが着実に進展している。

窒素固定能の向上、付与のためには根粒菌と宿主植物の相互作用を理解しなければならない。根粒菌の遺伝子の解析は進んでいるが、宿主植物の方の遺伝子はノジュリン遺伝子(根粒細胞に特異的に発現している宿主植物の遺伝子)を除いてあまり進んでいないようである。宿主植物側の共生に関わる遺伝子の分子生物学的研究が急務である。

#### 3) 繁殖様式の制御

雄性不稔、特に細胞質雄性不稔の分子生物学的研究が進んでいるが、細胞内小器官の形質転換の技術が開発されていないので、基礎研究としても、実用的にも

曲り角にあると思われる。核ゲノムの稔性回復遺伝子の単離が次のターゲットのひとつである。日長(温度)感応性雄性不稔, アポミクシスの生化学的研究に着手する時期かも知れない。最近, タバコ細胞特異的なプロモーターにリボヌクレアーゼ遺伝子を連結させ, 形質転換によりナタネの雄性不稔系統を作出したとの報告があった。注目すべき新手法である。

自家不和合性に関与するS糖タンパク質とその遺伝子についてはアブラナ科作物, タバコで進んでいるが, 自家不和合性を解明するのはまだ時間が必要で, 自家不和合性を形質転換でコントロールできるのは将来のことであろう。

#### 4) 分化, 形態形成, 生長, 老化の制御

この分野の研究はシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を中心に進んでいる。多くの突然変異体があり, 花の形態についてはホメオティック突然変異も得られている。RFLP マーカーを利用したクロモゾームウォーキング, トランスポゾンやT-DNA 挿入による遺伝子単離の努力が続けられている。既にT-DNA 挿入により, 矮性変異体を得られ, またクロモゾームウォーキングによりエチレンのリセプター遺伝子が単離されようとしている。シロイヌナズナで単離された遺伝子は作物の遺伝子の単離にも使うことができる。作物にも半矮性や感光性の遺伝子が知られており, その単離の

ための研究も進められている。R<sub>1</sub> プラスミドの矮化遺伝子 *ro1C* や5-アザシチジンによる矮化も有益な情報を与えてくれる。

最近2つのグループ<sup>6,7)</sup> が独立にトマトの果実のペクチンを分解するポリガラクトクロナーゼのアンチセンスRNA を構成的に作り出すような形質転換により, 遅く収穫しても傷みにくいトマトを作出した。また米国農務省の研究者はエチレン生成の鍵となる酵素1-アミノサイクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) 合成酵素の cDNA を単離することに成功した。彼等はその遺伝子のプロモーターを使い, アンチセンス技術により成熟をコントロールすることをねらっている。

#### 5) 含有成分の改変

貯蔵成分のうち最も分子生物学的な研究が進んでいるのが種子貯蔵タンパク質である。多くの種子貯蔵タンパク質の cDNA や遺伝子が単離され, その構造が明らかになっている。また遺伝子の発現に関与するシス調節領域とトランス制御タンパク質の解析が進められている。第4表に種子貯蔵タンパク質の遺伝子を異種植物に導入して発現が認められた例をまとめてある。多くの場合に, 組織特異的な発現が確認されている。

貯蔵タンパク質の改変の目的は, アミノ酸組成や食品加工特性の改良である。そのために, 特定の貯蔵タンパク質遺伝子の発現を高めたり, 改変した遺伝子や

外来の有用遺伝子を導入することが考えられる。同時に不都合な遺伝子の発現を抑制することも重要である。

実用的な形質転換植物を作出するためには発現の制御領域を含めて複数の遺伝子についての操作と既存の変異体の利用等を総合的に考えなければならない。改変した遺伝子の例として, トウモロコシのゼイン<sup>8)</sup> に必須アミノ酸のリジンとトリプトファンを付加するようにコードを変換した遺伝子, インゲンマメのファゼオリン遺伝子<sup>9)</sup> にメチオニンのコードを含むDNA を挿入したもの, ソラマメのレグミンBの遺伝子にメチオニンのコードを加えたもの, またダイズのグリシニン遺伝子の可変領域にメチオニンやシステインのコードの導入等がある。これらはまだ実用の域にまで達していないが, これ

第4表 種子蛋白質遺伝子の異種植物への導入と発現

遺 伝 子	導入植物
β-ファゼオリン遺伝子 (インゲンマメ)	ヒマワリ培養組織
β-ファゼオリン遺伝子 (インゲンマメ)	タバコ植物体
β-コングリシニンα' サブユニット遺伝子 (ダイズ)	ペチュニア //
β-コングリシニンα' サブユニット遺伝子 (ダイズ)	ペチュニア //
β-コングリシニンβ サブユニット遺伝子 (ダイズ)	ペチュニア //
β-コングリシニンα' サブユニット遺伝子 (ダイズ)	ペチュニア //
β-コングリシニンα' サブユニット遺伝子5' 隣接領域(ダイズ)	タバコ //
β-コングリシニンβ' サブユニット遺伝子 (ダイズ)	タバコ //
β-コングリシニンα', β サブユニット遺伝子 (ダイズ)	ペチュニア //
レグミン遺伝子 (エンドウ)	<i>N. plumb</i> //
ピシリン遺伝子 (エンドウ)	タバコ植物体
レグミンB遺伝子 (ソラマメ)	タバコ //
2 Sタンパク質 (ナタネ)	ナタネ //
19 kd, 15 kd ゼイン遺伝子 (トウモロコシ)	ヒマワリ培養組織
15 kd ゼイン遺伝子 (トウモロコシ)	タバコ植物体
22 kd ゼイン遺伝子, 19 kd ゼイン cDNA (トウモロコシ)	タバコ //
19 kd ゼイン遺伝子 (トウモロコシ)	ペチュニア植物体
19 kd ゼイン遺伝子 (トウモロコシ)	ヒマワリ培養組織
低分子グルテニン遺伝子, 高分子グルテニン遺伝子 (コムギ)	ニンジンプロトプラスト
高分子グルテニン遺伝子 (コムギ)	タバコ植物体
B1ホルデイン遺伝子 (オオムギ)	タバコ //
	タバコ //

からの発展に貴重な示唆を与えてくれる。改変した遺伝子から作られるタンパク質が安定で、タンパク質顆粒に蓄積されることが重要である。

外来遺伝子の導入の例として、メチオニンに富むブラジルナッツの2Sタンパク質の遺伝子<sup>10)</sup>をファゼオリン遺伝子の調節領域と結合してタバコに入れて、種子中のメチオニン含量が30%増加したという報告がある。Jaynesのグループ<sup>11)</sup>は必須アミノ酸に富む完全合成の2重鎖DNAとCAT(クロラムフェニコルアセチルトランスフェラーゼ)の遺伝子とのキメラ遺伝子をノパリン合成酵素遺伝子のプロモータと結合してジャガイモに導入した。タンパク質の合成量が少なかったため、プロモータ等の改良が必要であるが、やはりタンパク質の安定性と蓄積が問題であろう。

食品加工特性として、コムギの製パン性、ダイズタンパク質のゲル化能、ゲルの物性が重要である。前者はグルテニン高分子サブユニットと、後者はグリシンサブユニットと関連があることがわかっているが、一次構造との関係は今後に残された課題である。我々はダイズ種子のアミノ酸組成とタンパク質の機能特性を同時に改変する遺伝子を探索している。

植物油脂については無エルカ酸ナタネ、オレイン酸含量の高いベニバナやヒマワリ等のめざましい成果が従来の成分育種で達成されている。植物油脂の脂肪酸の中には第5表に例示したような特殊なものがあり、

第5表 特殊な脂肪酸を含む植物油脂

油脂のタイプ	例	植 物
短鎖	C <sub>8</sub> -C <sub>10</sub>	タバコソウ ( <i>Cuphea</i> )
中鎖	ラウルリン酸 (C <sub>12</sub> )	アブラヤシ, ココヤシ, タバコソウ ( <i>Cuphea</i> )
長鎖	エルカ酸 (C <sub>22</sub> )	ナタネ, ハマナ ( <i>Crambe</i> )
高度不飽和	α-リノレン酸 γ-リノレン酸	アマ マツヨイグサ
水酸基	リシノール酸	ヒマ
エポキシ基	ベルノール酸	ルリギク ( <i>Stokesia leavis</i> ), Vernonia 属
融点の低い固体	カカオバター	ココア
ワックスエステル	ホホバ蠟	Jojoba

工業用、化粧品等の用途に用いられている。特殊な脂肪酸を生産力の高いナタネやダイズ等の油料作物で生産させるためには形質転換に依らなければならない。

タバコソウ (*Cuphea*) はC<sub>8</sub>~C<sub>14</sub>の短鎖または中鎖の脂肪酸を主要な脂肪酸とする野草である。今のところ、その生化学的解明がなされていないので、*Cuphea*の遺伝子を利用することができないが、ラットのアシル-ACPチオエステラーゼ(C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>の中鎖脂肪酸を生

産することが知られており、マウスの繊維芽細胞にそのcDNAを導入して効果が確かめられた)のcDNAを種子特異的なプロモータ及びトランジットペプチド(脂肪酸の初期の炭素伸長は種子のプラスチド中でおこなわれる)のコードと連結してナタネ等に導入することが提案されている。

オランダガラシ (*Nasturtium*) のアシルトランスフェラーゼはグリセロール骨格の第2位にエルカ酸を結合する。ナタネでは第1位と第3位にのみエルカ酸が結合しているため、*Nasturtium*のアシルトランスフェラーゼ遺伝子をナタネに導入すればエルカ酸の多いトリアシルグリセロールの生産が期待され、工業的に価値の高い、高エルカ酸ナタネ油が得られるかも知れない。

外来遺伝子による脂肪酸組成の改変に当っては、その脂肪酸がトリアシルグリセロールにだけ導入され、膜を構成するリン脂質に影響しないようにすることが重要である。今後は脂質代謝をより詳細に解明すること、特に膜結合型の酵素の精製からその遺伝子を単離する(今までのところ、アシルキャリアータンパク質等わずかの可溶性酵素の遺伝子が単離されている)ことが重要である。

貯蔵でんぶんの生合成機構はトウモロコシを中心とした変異体を用いてよく解析されているが、未解決のことも多く、でんぶんの構造自体も未知の部分があり、特定の物性のでんぶんを生産するためにその構造を形質転換で制御することは未だ困難であろう。でんぶん以外の貯蔵性多糖類、セルロース、植物ゴム、植物粘質物の合成と構造についての研究も必要である。

二次代謝物には多くのものがあるが、フラボノイド代謝の制御により、花色を変換した例がある。ひとつはトウモロコシのジヒドロ

フラボノール4-レダクターゼ(DFR)遺伝子をペチュニアに入れ、ペラルゴニンを生合成させた結果、レンガ色の花ができたという報告<sup>12)</sup>である。また、ペチュニアのカルコン合成酵素(CHS)のアンチセンスRNAをペチュニアとタバコに導入して、野生型の赤い花以外に新たな色合いのものや白い花が得られている<sup>13)</sup>。色素発現のパターンも制御することが次の課題である。他の色素やアルカロイドも分子育種の対象になるのは

遠くないと予想されるが、そのためには代謝系をまず明らかにすることが必要である。

食糧や飼料として利用する際に、栄養阻害要因と考えられる物質(ダイズのトリプシンインヒビターやイネ科牧草のパーローリン等)を除去するのにアンチセンス RNA やリボザイムの利用が可能であろう。

逆に食品に生体調節機能を持つ機能性ペプチドや味を変化させる呈味性ペプチドを付加することも比較的可能性が高い。

オーストラリアにおける羊毛の育種の一環としてケラチンの合成に必要なシステインをこぶ胃を通り越して、直接しわ胃に供給することが要求されている。システインに富むエンドウの種子アルブミンがこぶ胃で消化されにいがわかり、その遺伝子が、*rbcS* の 5' 隣接領域とともにアルファルファに導入された。種子アルブミンはアルファルファの葉で発現したが、更に発現量の増大を求めて研究が続けられている。

最近、医薬品やポリマー等を植物に生産させる試みが始められている。植物はエネルギーを光合成により太陽から直接得ていることに利点があるが、生産に時間のかかることや回収のコスト等を考慮しなければならないだろう。

Vandekerckhove ら<sup>14)</sup> (1989) はシロイヌナズナの 2 S タンパク質の変換領域の一部をヒトの神経伝達ペプチドであるエンケファリン(アミノ酸 5 個からなるが、トリプシン消化のために両側にリジン残基をつけてある)に置き換えた遺伝子をアラビドプシス及びタバコに導入し、2 S タンパク質からエンケファリンを回収した。

Hiatt ら<sup>15)</sup> (1989) はマウスのハイブリドーマが生産する抗体(6D4)のカップ鎖とガンマ鎖の mRNA から cDNA を合成してタバコに導入した。リーダー配列を含むものでは高いレベルで葉にタンパク質の発現があり、両鎖を単独に発現している植物を交配した個体では両鎖が会合し、抗体として機能することがわかった。

Sijmons ら<sup>16)</sup> (1990) はヒト血清アルブミン遺伝子をカリフラワーモザイクウィルスの 35S プロモータと結

合してジャガイモとタバコに導入した。ジャガイモから精製した血清アルブミンの解析からタバコの PR (感染特異的) タンパク質 S のシグナル配列をつけたものは正確にプロセスされ、本来の血清アルブミンと同じタンパク質が得られた。

細菌由来のポリマー生産遺伝群の導入により、植物で生物分解可能なプラスチックをつくることも考えられている。植物を自然資源を利用した物質生産系と見なし、食糧や飼料だけでなく、医薬品や工業素材を供給するために利用する時代が近づいているようである。  
(農業生物資源研究所適応性遺伝子研究室長)

#### 引用文献

- 1) C.S. Gasser and R.T. Fraley (1989): Science 244, 1293-1299
- 2) H. Uchimiya and T. Handa (1989): J. Biotech, 12, 1-20
- 3) 伊藤 洋, 鈴木隆之, 貝沼圭二(1990): 化学と出物 28, 182-196
- 4) 安西弘行, 米山勝美(1990): Bioindustry 7, 29-36
- 5) 村田紀夫(1984): 化学と生物 22, 418-420
- 6) C.J.S. Smith ら(1988): Nature 334, 724-726
- 7) R.E. Sheehy ら(1988): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 8805-8809
- 8) J.C. Wallace ら(1988): Science 240, 662-664
- 9) L.M. Hoffman ら(1988): Plant. Mol. Biol. 11, 717-729
- 10) S.B. Atenbach ら(1989): Plant. Mol. Biol. 13, 513-522
- 11) M.S. Yang ら(1989): Plant. Sci. 64, 99-111
- 12) M.P. Meyer ら(1987): Nature 330, 677-678
- 13) A.R. van der Krol ら(1988): Nature 333, 866-869
- 14) J. Vandekerckhove ら(1989): Bio/Technology 7, 929-932
- 15) A. Hiatt ら(1989): Nature 342, 76-78
- 16) P.E. Sijmons (1990): Bio/Technology 8, 217-221

\*本誌 45 巻 7 月号掲載、渋谷知子著「耕草園地およびその周辺に生育する植物から放出される揮発性物質の放出速度と大気中濃度」の中に誤植がありましたので訂正します。318 ページ第 1 表中の物質名 4-メチル-2-ヘンタノン→4-メチル-2-ペンタノン、ヘンタデカン→ペンタデカン、 $\alpha$ -ヒネン→ $\alpha$ -ピネン、 $\beta$ -ヒネン→ $\beta$ -ピネン、 $\alpha$ -テルヒノレン→ $\alpha$ -テルピノレン、 $\gamma$ -テルヒノレン→ $\gamma$ -テルピノレン、ヘリレン→ペリレンでした。また 319 ページ左段下から 4 行目の「以上」に始まる文章は「以上のように個々の植物からは様々な揮発性物質が放出されている。その種類や放出速度は、傷害の有無、生育段階、天候や時間帯によって変化する。以下、揮発性物質の放出量の変化について述べる。」の誤りでした。深くお詫び申し上げます。