

くわっぷ 作物研究所 ニュース23

2006.11



【ヘッドライン】

- ◆ 研究所ニュース
 - 作物研究所と中国農業科学院作物科学研究所が研究交流に関する覚書を締結
- ◆ 研究成果
 - 豆腐の堅さには大豆のタンパク質、フィチン、カルシウムの含量が複合的に影響する
 - ウイスカ直接導入法とSMT選抜法による実用的な遺伝子組換え作物の作出技術
- ◆ 活動のトピック
 - 鮎野真喜子主任研究員 植物化学調節学会奨励賞を受賞
 - アグリビジネス創出フェアに出展しました

研究所ニュース

作物研究所と中国農業科学院作物科学研究所が研究交流に関する覚書を締結

作物研究所は、中華人民共和国の中国農業科学院作物科学研究所(以下、中国作物科学研究所)との研究交流を促進する覚書を締結しました。

作物研究所では、海外の研究機関との積極的な研究交流・共同研究を進めており、国際稻研究所や韓国農村振興庁作物科学院、中国科学院東北地理・農業生態研究所などと研究交流・協力の覚書を締結してきました。昨年5月に中国農業科学院の翟虎渠(Zhai Huqu)院長が作物研究所を訪れたのを契機に、中国の作物研究の中核的な機関である中国作物科学研究所との研究交流について協議を続けてきました。

その結果、平成18年11月7日に作物研究所 黒田秩所長が北京市の中国作物科学研究所を訪れ、両研究所の研究交流を盛んにし、両国に共通する作物科学分野で協力することに合意し、万建民(Wan Jianmin)所長との間で覚書を交わしました。この覚書により、作物研究の基盤的な分野を中心に研究者の交流や共同研究が活発になり、両研究所の研究がより進展することが期待されます。



覚書を交換する作物研究所 黒田秩所長（左）
中国作物科学研究所 万建民所長（右）

研究成果

豆腐の堅さには大豆のタンパク質、フィチン、カルシウムの含量が複合的に影響する

大豆育種研究チーム 戸田恭子

国産大豆は同じ品種でも栽培環境によって品質が変わり、豆腐の堅さが安定しないことが問題となっています。一般に、タンパク質含量が高い大豆ほど堅い豆腐となると言われますが、タンパク質含量だけでは説明できない豆腐の堅さの変動もあります。

この研究では、国内各地で生産された大豆品種サチユタカ、フクユタカ、エンレイを用いて、タンパク質に加えてフィチンとカルシウムの含量が豆腐の堅さにおよぼす影響を明らかにしました。

【フィチン含量とタンパク質含量が豆腐の堅さにおよぼす影響はカルシウム含量によって変わる】

豆乳中のカルシウム含量21mg/dlを境に、3品種の大豆を产地によって高カルシウム大豆と低カルシウム大豆に分けて、それそれぞれにおいてフィチン含量とタンパク質含量が豆腐の堅さにおよぼす影響を調べました。豆腐の堅さをクリープメータ(YAMADEN RE3305)による破断応力により測定すると、カルシウム含量の低い大豆では、フィチン含量が豆腐を柔らかくする効果が強くなることが分かりました(図1)。逆に、カルシウム含量の高い大豆ではタンパク質含量が豆腐を堅くする効果が強くなりました(図2)。

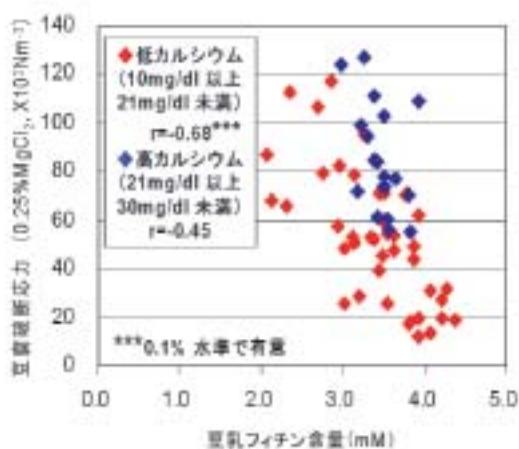


図1. フィチン含量と豆腐の堅さ(豆腐破断応力)との関係

これらの結果は、豆腐の堅さにはカルシウム、フィチン、タンパク質の含量が複合的に影響することを示しています。

【豆腐加工適性評価への活用】

国産大豆品種ではカルシウム含量に品種ごとにおおまかな傾向があることが知られています。そこで、通常はカルシウム含量が低い「サチユタカ」と高い「フクユタカ」「エンレイ」に分け、品種ごとにタンパク質とフィチン含量の重相関係数を指標とすることで、従来のタンパク質含量による方法より高い精度で豆腐の堅さを推定できました(表1)。この方法は簡便な豆腐加工適性の評価法として利用が期待されます。

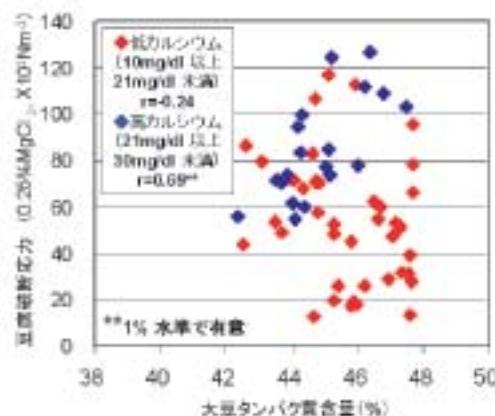


図2. タンパク質含量と豆腐の堅さ(豆腐破断応力)との関係

【おわりに】

これまでの研究で、タンパク質とカルシウム含量は主に品種に、フィチン含量は栽培条件に影響されることが明らかにされています。したがって、品種開発と栽培法の改良の両面から豆腐加工適性の高い大豆の生産を目指す必要があります。

表1. 大豆タンパク質およびフィチンと豆腐破断応力(0.25% 塩化マグネシウム)との相関

供試大豆品種 (カルシウム含量、供試畠地数)	成分	各成分含量と豆腐 破断応力との相関	タンパク質およびフィチン含量と 豆腐破断応力との重相関
サチユタカ (低カルシウム, n=25)	タンパク質	0.11	0.79***
	フィチン	-0.76***	
エンレイ、フクユタカ (高カルシウム, n=36)	タンパク質	0.51**	0.72***
	フィチン	-0.50**	
3品種合計 (n=61)	タンパク質	0.16	0.52***
	フィチン	-0.52***	

* * 1% 水準で有意。 *** 0.1% 水準で有意。

ウイスカ直接導入法と5MT選抜法による実用的な遺伝子組換え作物の作出技術

稻遺伝子技術研究チーム 小松 晃

遺伝子組換え作物の作出において、パーティクルガン法やエレクトロポレーション法などの直接導入法により環状DNAベクターを導入した場合、目的の発現カセット以外のベクター領域の一部が、植物側のゲノムに導入されてしまう場合があります。また、アグロバクテリウムによる間接導入を行う際にも、ベクター配列の外側のベクター領域が、導入されてしまうケースが報告されています。一方、これまででは組換え体の選抜時に用いる選抜マーカー遺伝子として、抗生物質のひとつであるハイグロマイシンや、カナマイシンへの耐性を持たせるバクテリア由来の遺伝子が用いられてきました。このような背景から、遺伝子組換えによる实用品種開発に向けて、ベクター領域を含まない目的領域のみを導入できる技術の開発や、バクテリア由来の遺伝子の使用に対する、消費者心理への配慮等が求められています。

これらの問題を回避する方法のひとつとして、ウイスカ直接導入法により、目的発現カセット領域(プロモーター、目的遺伝子およびターミネーター配列)のみを導入する方法の開発や、植物由来の選抜マーカー遺伝子による、抗生物質を使用しない選抜技術の開発を試みました。

【ウイスカ法によるカセット領域のみの導入】

ウイスカ直接導入法は、炭化ケイ素やホウ酸アルミニウム、チタン酸カリウム等の針状結晶を目的植物の細胞塊(カルス)に混ぜて超音波処理等を行うことによって、細胞に穴を開け、そこから目的の遺伝子を細胞内へ導入する技術で、同じ直接導入法であるパーティクルガン法やエレクトロポレーション法のよう、特別な導入装置を使用せずに遺伝子導入が行える利点があります。

また、アグロバクテリウムによる間接導入法と違い、ウイスカ直接導入法はベクターを必要としないため、発現カセット領域のみのDNA断片でも植物ゲノム内への導入が可能となり、ベクター領域の導入を防ぐことにつながります。

【5MT選抜法による遺伝子組換え個体の選抜技術】

トリプトファン類似物質である5-メチルトリプトファン(5MT)は、トリプトファン合成にかかわるアントラニル酸合成酵素の活性を強く阻害しますが、イネ由来のアントラニル酸合成酵素遺伝子を1塩基置換した変型(*OASAID*)から生じる酵素は、5MTによる活性阻害を受けなくなります。そのため*OASAID*が導入された細胞は、選抜培地中の5MTに対して抵抗性を示し、5MTが存在しても増殖できるため、形質転換体として選抜することができます。

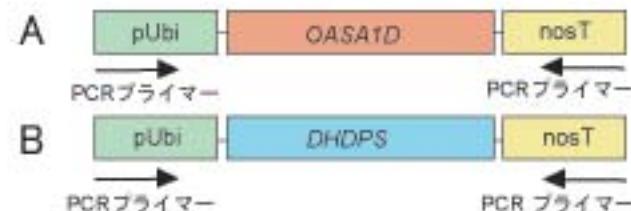


図1. ウィスカ法による導入試験に使用した直鎖状のDNA断片。
(A)は選抜マーカーカセットとして用いた変型アントラニル酸合成酵素遺伝子(*OASAID*)。(B)はリジン合成縮合酶のため導入した目的遺伝子(変型ジヒドロビコリン酸合成酵素遺伝子*DHDPS*)。pUbiは導入遺伝子の発現のためのユビキチン遺伝子プロモーターであり、植物体全体で強い発現を起こす。nosTはターミネーターとして用いたノリソン合成酵素遺伝子のターミネーターを示す。矢印で示したプライマーによりPCR増幅したDNA断片を導入試験に用いる。

これら個別の技術開発を行った上で、植物体全体で強い発現特性を示すユビキチンプロモーターに*OASAID*遺伝子をつないだ、ベクター配列を含まない直鎖状の発現カセット(*pUbi::OASAID-nosT*, 図1A)を選抜マーカー遺伝子として使用し、これとは別にベクター配列を含まない直鎖状の目的遺伝子発現カセット(図1B)と一緒にイネカルスへ導入したところ、2つの発現カセットが両方導入された複数の遺伝子組換え系統が、5MT選抜法により効率的に得られました(表1)。

表1. ウィスカ直接導入法と5MT選抜法を用いたコトランスフォーメーションによる遺伝子組換えイネ系統の作出効率

導入遺伝子 カセット	カルス 重量(g)	ショート割成した 遺伝子カカルス数	<i>OASAID</i> PCR(+)	<i>DHDPS</i> PCR(+)	個体数
<i>OASAID</i> ^{a)} / <i>DHDPS</i> ^{b)}	6.0	21	19	14 ^{c)}	12

a) *OASAID*: 改変アントラニル酸合成酵素遺伝子

b) *DHDPS*: 改変ジヒドロビコリン酸合成酵素遺伝子

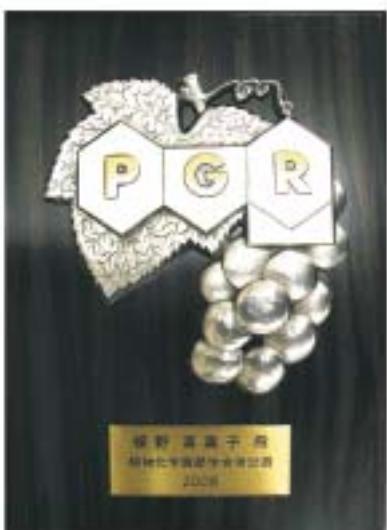
c) *OASAID*が導入された19系統のうち14系統で*DHDPS*が導入されていた

ここで紹介した2つの技術を併せて用いることにより、抗生物質耐性遺伝子を用いず、ベクター配列を含まない、消費者心理にも配慮した実用的な有用遺伝子組換え作物を作出することが可能となりました。

本成果は北興化学工業(株)開発研究所、長谷川久和氏、寺川輝彦氏との共同研究で得られたものです。

活動のトピック

■蝶野真喜子主任研究員 植物化学調節学会奨励賞を受賞



作物研究所麦類遺伝子技術研究チームの蝶野真喜子主任研究員は、「ムギ類の渇性および穂発芽性に関する分子生物学的研究」の成果によって、植物化学調節学会奨励賞を受賞しました。この賞は植物化学調節学会が植物の化学調節の分野で優れた研究を行い、将来の発展が期待される若手研究者に与えるものです。10月30日に大阪府立大学で授与式が行われ、坂神洋次会長より賞状と賞牌が授与されました。

【研究の内容】

オオムギの半矮性形質“渇性”的機構解明を試みるとともに、環境要因の影響を受けやすいムギ類の“穂発芽性”について分子レベルで解析しました。その結果、オオムギの渇性は、ブクシノステロイド受容体遺伝子に起きた1アミノ酸変異を伴う1塩基置換に起因することを明らかにしました。また、オオムギ種子の休眠維持には、種子吸水過程におけるアブシジン酸合成・代謝酵素遺伝子の発現制御を介したアブシジン酸量の調節が重要な役割を果たしている可能性を明らかにしました。

■アグリビジネス創出フェアに出展しました



10月25日から26日に東京国際フォーラムで開催されたアグリビジネス創出フェアに参加しました。この展示会は、大学、独法、関連企業などが開発した技術を紹介し、技術移転、事業化、市場開拓などのビジネスチャンスを作るもので、二日間で4870名の方々が訪れました。

作物研究所からは、もち性小麦品種「うららもち」と低アミロース性小麦品種「あやひかり」、リグナン含量の高いゴマ品種「ごまぞう」を紹介しました。特に、JA津安芸から提供された「うららもち」のシフォンケーキの展示には食品関係の参加者が目を留めていました。



編集後記

中国科学院作物科学研究所との研究交流・協力を進める覚書が締結され、両研究所の間での交流が期待されます。特に、中国作物科学研究所の万建民所長は若い研究者の交流が盛んになることを期待しています。万所長自身も日本滞在の期間が長く、作物研究所の前身である農業研究センターで2年間稻育種の研究をした経験があります。