

きのこの分子生物学研究用ツール

- 遺伝子組換えマーカーとミトコンドリア移行シグナル配列 -

研究の内容

担子菌(きのこ)は食品として重要であるだけでなく、リグニンや環境ホルモンなどの難分解性物質の分解能力を持つユニークな生物です。ポストゲノム時代を迎え、得られた遺伝子情報から個々のタンパク質の機能の解明が急がれます。しかしながら担子菌は他生物に比べ遺伝子操作に使いやすい遺伝子組換えマーカーが少ないことや、細胞の機能を解析するために便利なツールも不十分です。私たちは最近ネナガノヒトヨタケ組換えマーカー遺伝子及びミトコンドリア移行シグナルペプチドの開発に成功しました。

技術の特徴

・担子菌のモデル生物であるネナガノヒトヨタケの DNA組換えマーカー遺伝子(フルトラニル抵抗性遺伝子)を開発しました。担子菌でよく使われる栄養要求性相補遺伝子と異なり、どんな菌株でも宿主として利用可能です。



図. 1 フルトラニル抵抗性遺伝子導入の効果。

ネナガノヒトヨタケの変異株(FR-1, 左上), 野生株(#292, 右上), 組換え体(下, 左右とも)をフルトラニルを0, 1, 2 μM加えたMYG培地に植菌した。フルトラニルを含む培地上では野生株は生育することができないが、組換え株は変異株同様、よく生育することができる。

・担子菌において目的の組換え蛋白質をミトコンドリアへ送り込むためのシグナルペプチドを開発しました。このシグナルペプチドをコードする遺伝子を目的蛋白質遺伝子と融合し、担子菌内に導入し蛋白質を発現させると、目的蛋白質をミトコンドリアへ局在させることができます。実際にGreen Fluorescence Protein (GFP)をミトコンドリア内に局在させることに成功しています。

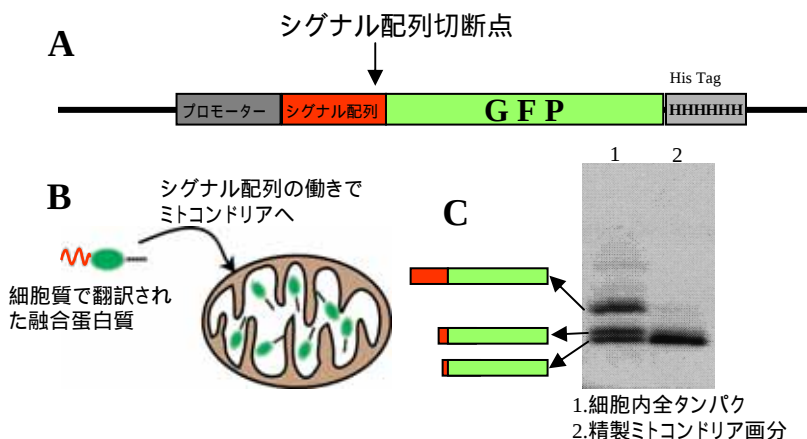


図. 2 ミトコンドリア移行シグナルペプチドの機能解析。

A. ネナガノヒトヨタケのミトコンドリア移行シグナルペプチドをコードするDNAをGFP遺伝子につなげた導入用遺伝子。精製可能なように6xHisTagを接続している。B. 生成蛋白質のミトコンドリア移行の模式図。C. SDS-PAGEによるGFP蛋白質の局在性確認。シグナル配列が切断された蛋白質がミトコンドリアに局在している。

今後の展開

・リグニンや環境ホルモンの分解に関わると考えられる他種の担子菌酵素をネナガノヒトヨタケで発現させ、その機能を解析する。
・ミトコンドリアはエネルギー生産の場であり、核とミトコンドリア間の相互作用が細胞の機能調節に大きな影響を与えと考えらる。担子菌特有のミトコンドリア機能解析に利用可能である。



代表研究者: 伊藤 康博
所 属: 生物機能開発部 細胞機能研究室

問い合わせ先: 研究交流科 関谷 修三
e-mail: atunisi@nfri.affrc.go.jp

独立行政法人
食品総合研究所