

スギの培養細胞からクローンスギの作出に成功

生物工学研究領域 樹木分子生物研究室 伊ヶ崎 知弘
 森林遺伝研究領域 ゲノム解析研究室 伊原 徳子
 生物工学研究領域長 篠原 健司

背景と目的

遺伝子組換えは遺伝子の機能解析等の基礎研究だけでなく、形質の付与や改良を目指した応用研究にも利用可能な技術です。遺伝子組換えには、目的を達成するための遺伝子、遺伝子導入技術、個体再生技術が必要です。これまで、遺伝子組換えスギの作出例は報告されていません。それは培養細胞から効率の良い個体再生技術が確立されていなかったためです。本研究では、被子植物に存在する細胞増殖因子ファイトスルフォカイン (PSK) が裸子植物であるスギにも存在していることを発見し、この PSK を利用して、スギの培養細胞を効率良く不定胚（種子中の植物になる部分“胚”を培養細胞などから人為的に誘導したもの）へ分化させる技術を開発しました。さらに、この胚を発芽させ、正常なスギ幼植物体にすることに成功しました。

成 果

裸子植物にも存在する細胞増殖因子ファイトスルホカイン (PSK)

PSK は 5 つのアミノ酸からなるペプチド（図 1A）で、細胞の増殖や特定の方向性を持った器官への分化など、植物ホルモン様の作用を示します。PSK は遺伝子によりコードされる前駆体タンパク質が修飾や切断を受けることにより生成します。これまで、アスパラガス、ニンジン、イネ、シロイヌナズナといった被子植物でその存在が確認されていましたが、裸子植物であるスギにも PSK 前駆体タンパク質をコードする遺伝子が存在し、その遺伝子が発現していることを発見しました。スギ PSK 前駆体遺伝子は 102 アミノ酸からなるタンパク質 (CjPSK1) をコードしますが（図 1B）、PSK 配列以外の部分では、他の植物の PSK 前駆体タンパク質と相同性がほとんどありませんでした（図 1C）。

PSKを用いた効率の良いスギ個体再生系の確立

スギ培養細胞の増殖培地に PSK を添加すると、細胞増殖を良好にする効果や、長期間の培養による細胞分裂活性の低下や細胞の褐変を抑制する効果を示しました（図 2）。この結果は、スギにおいても被子植物の場合と

同様に PSK が機能していることを示しています。また、スギ培養細胞を不定胚へ分化させるための培地に PSK を添加すると、不定胚への分化効率が顕著に上昇しました（図 3A、B）。誘導した不定胚は正常に発芽し、幼植物体へと生育しました（図 3C）。さらに、PSK を添加した培地で培養細胞を維持すると、不定胚へと分化する能力が高いまま長期間維持することが可能となり、誘導後 3 年以上経過した培養細胞でも不定胚へ分化させることができます。

本研究の推進により、組換えスギの作出がより現実的になりました。本研究で開発したスギ不定胚誘導技術を活用することにより、花粉でアレルギーを作らないように細工した遺伝子をスギの培養細胞に導入し、アレルギーフリーのスギ植物体の作出が可能になります。また、スギ花粉症対策だけでなく、材質の改良や耐病性の付与など遺伝子組換えによる新機能の付与にも活用が期待できます。

本研究の一部は、交付金プロジェクト「遺伝子組換え技術を活用した次世代型植物の開発に関する研究」により行いました。

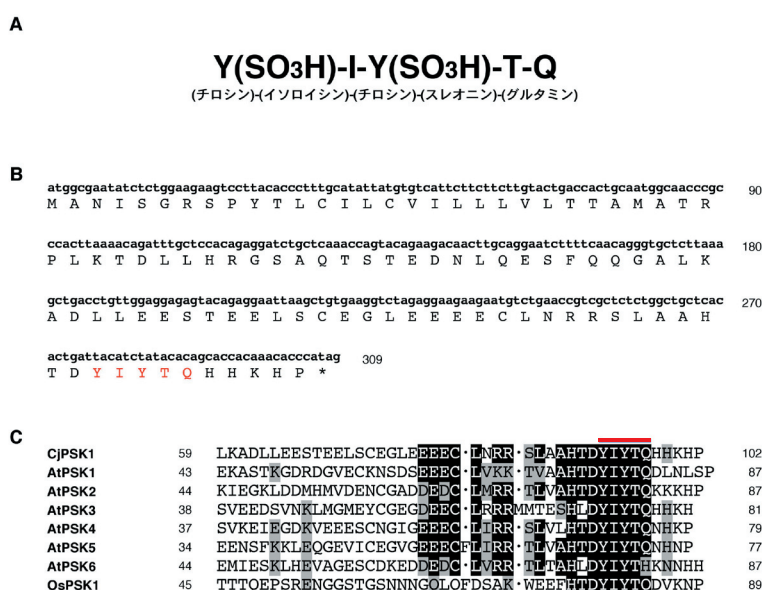


図1 スギのPSK

(A) PSKの構造。PSKは5アミノ酸で構成されたペプチドで、その中には硫酸化されたチロシンが2つあります。(B) スギのPSK前駆体タンパク質(CjPSK1)遺伝子の塩基配列及び推定アミノ酸配列(一文字表記)。PSKは赤い文字で示しています。(C) CjPSK1とシロイヌナズナ及びビネのPSK前駆体タンパク質遺伝子(AtPSK1~6, OsPSK1)の推定アミノ酸配列の比較。共通のアミノ酸は白抜き文字、類似性の高いアミノ酸はシャドウで示しています。

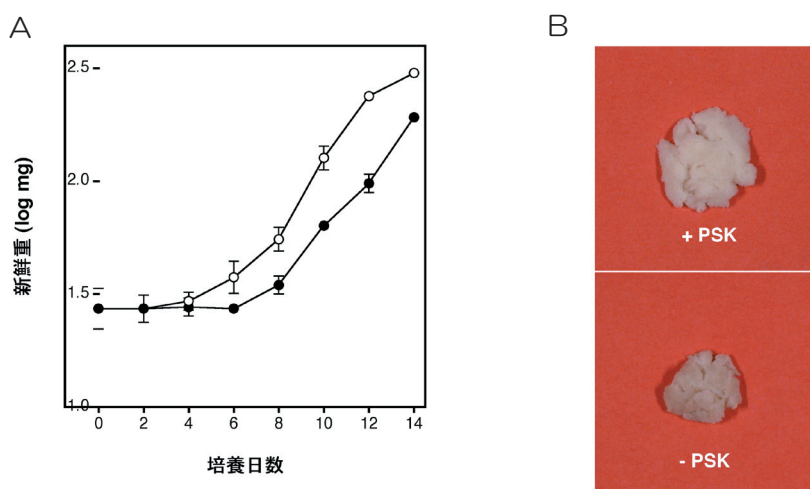


図2 スギ培養細胞に及ぼすPSKの効果

(A) スギ培養細胞の増殖曲線。PSKを添加した場合(○)には、PSK無しの場合(●)と比較して初期の細胞増殖が早くなります。(B) 2週間培養した細胞の様子。PSKを添加すると、細胞が褐変しにくくなります。

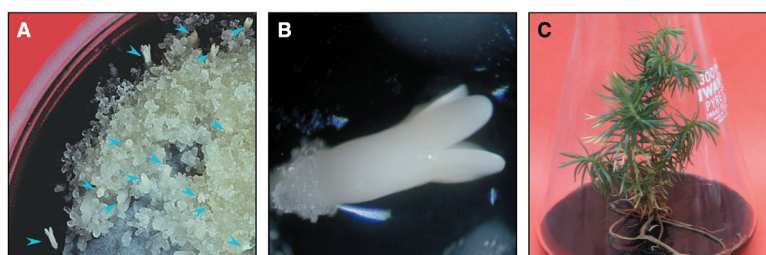


図3 スギの不定胚分化に及ぼすPSKの効果

(A) 培地上に誘導された不定胚。PSKを添加すると、矢印で示した箇所に不定胚が観察できます。(B) 不定胚の拡大写真。(C) 幼植物体。