

平成 27 年度 成果情報 B2

【成果情報名】アグロバクテリウム遺伝子組換え技術によるブラジル産ダイズの乾燥耐性の改良

【要約】低いコピー数で遺伝子を植物に導入することができるアグロバクテリウム遺伝子組換え技術をブラジルのダイズ品種で確立し、シロイヌナズナにおいて乾燥ストレス耐性に重要な役割を担っている AREB1 転写因子の遺伝子をブラジルのダイズ品種に導入すると、温室条件下で乾燥耐性を示す。

【キーワード】干ばつ、遺伝子組換えダイズ、AREB1 転写因子

【所属】国際農林水産業研究センター 生物資源・利用領域

【分類】研究 B

【背景・ねらい】

世界各地で発生する大規模で深刻な干ばつにより、主要作物であるダイズは甚大な被害を受けている。特にブラジルにおけるダイズ生産量はアメリカに次いで世界第 2 位、輸出額は世界第 1 位であるが、過去 10 年間に 4 回（2004/05、2008/09、2011/12、2013/14 収穫年度）もの干ばつが発生しており、干ばつに強いダイズの開発は急務となっている。これまでダイズの遺伝子組換えに用いてきたパーティクルガン法では、導入される遺伝子のコピー数が多いことや、導入遺伝子の DNA の断片が挿入されることによる遺伝子の異常発現やサイレンシングなどにより、育種への利用が難しい。そのため、低コピーで遺伝子の導入ができ、断片化した DNA の挿入のリスクが少ないアグロバクテリウムを用いた遺伝子組換え技術を確認することが求められていた。本研究では、低いコピー数で遺伝子を導入することができるアグロバクテリウムを用いた遺伝子組換え技術をブラジルのダイズ品種で確立し、シロイヌナズナにおいて乾燥ストレス耐性に重要な役割を担っている AREB1 転写因子の遺伝子を用いて、乾燥ストレスに耐性を示すダイズの作出を試みる。

【成果の内容・特徴】

1. ブラジルのダイズ栽培品種 BR-16 を用いて、アグロバクテリウムによる遺伝子組換え技術を確立し（図 1a）、1mM ジチオスレイトールおよび 1mM チオ硫酸ナトリウムをアグロバクテリウム感染培地に用いたところ、形質転換効率は 1.5%、導入遺伝子数は 1~2 コピーであり、実用レベルで組換えダイズを作出できる。
2. アグロバクテリウム法によって 35S プロモーター:AREB1 遺伝子を導入したダイズ品種 BR-16 のうち、1Ea15 系統、1Ea2939 系統における導入遺伝子数は 2 コピー、1 コピーである。
3. 導入した AREB1 遺伝子の発現レベルは、1Ea2939 系統では高いが、1Ea15 系統では低い。
4. 温室条件下において、1Ea2939 系統は強い乾燥ストレス（17 日間無給水）に対して最も耐性を示し、その生存率は 60% である（図 1b-d）。
5. 給水停止 7 日間のストレス条件下において、1Ea2939 系統は原品種と比べて光合成速度が有意に高い。このことは乾燥ストレスによるダメージが少ないことを示唆する（図 2）。

【成果の活用面・留意点】

1. アグロバクテリウムを用いたブラジルダイズ品種の遺伝子組換え技術の確立により、様々な有用遺伝子を低いコピー数でブラジルのダイズ品種に導入することが可能となる。
2. 乾燥ストレス耐性を示した AREB1 遺伝子組換えダイズ 1Ea2939 系統について、圃場レベルでの評価試験が必要である。

平成 27 年度 成果情報 B2

【具体的データ】

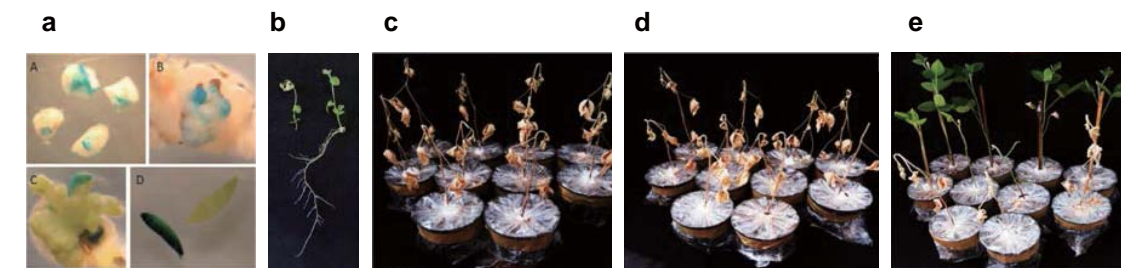


図 1 遺伝子組換えダイズおよび温室条件下での AREB1 組換えダイズの乾燥耐性試験

a, アグロバクテリウム法により GUS (β グルクロニダーゼ) レポーター遺伝子を導入したブラジルのダイズ品種 BR-16 で観察された GUS 活性（青色）。A, 導入 5 日目。B, 導入 1 週間。C, 導入 2 週間。D, 葉。b, 選択培地で発根した遺伝子組換えダイズ。左, 非組換えダイズ。右, 組換えダイズ。c-e, 17 日間の乾燥ストレス処理の後、再給水して 7 日を経たダイズ。c, 原品種(BR-16); d, アグロバクテリウム法により作出した AREB1 組換えダイズ(1Ea15); e, アグロバクテリウム法により作出した AREB1 組換えダイズ(1Ea2939)。BR-16、1Ea15 は枯死したが、1Ea2939 の生存率は 60% である。

a-b は Kanamori N, et al¹⁾、c-e は Marinho JP, Kanamori N, et al.²⁾ を改変。

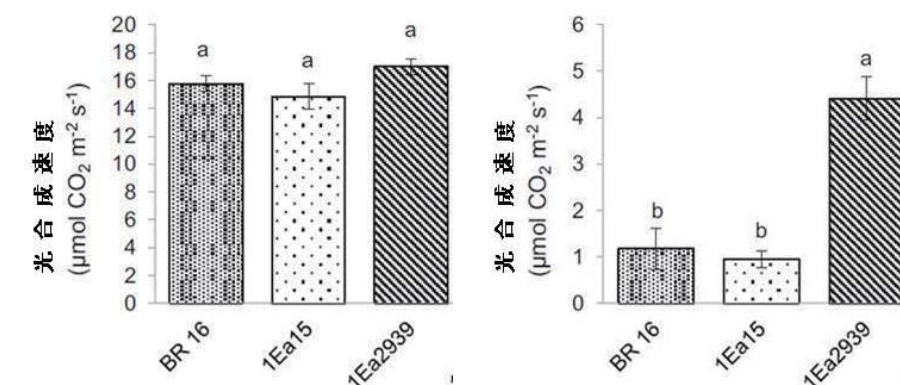


図 2 温室条件下での AREB1 組換えダイズの光合成速度

(左) 非ストレス条件; (右) 乾燥ストレス条件（給水停止 7 日後）

AREB1 組換えダイズ(1Ea2939)は、乾燥ストレス条件下において原品種(BR-16)と比べてより高い光合成活性を保持している。a と b は 5%水準で有意な差を示す。図は Marinho JP, Kanamori N, et al.²⁾を改変。

【その他】

研究課題：環境ストレス耐性作物の作出技術の開発

プログラム名：熱帯等の不安定環境下における農作物等の生産性向上・安定生産技術の開発

予算区分：運営費交付金 [環境ストレス耐性]、JST/JICA 地球規模 [SATREPS]

研究期間：2015 年度（2010~2015 年度）

研究担当者：金森紀仁・藤田泰成・中島一雄・篠崎和子（東京大学）・Juliane Marinho（Embrapa 大豆研究所）・Alexandre Nepomuceno（Embrapa 大豆研究所）

発表論文等：1) Kanamori N, et al. (2011) JIRCAS Working Report 71:75-79.

2) Marinho JP*, Kanamori N*, et al. (2015) Plant Mol. Biol. Rep. (印刷中, * 同等貢献)