

5

研究領域2

食糧と機能性成分生産のための植物の改良

Engineering of plants for production of provisions and nutraceuticals

小林 裕和 Hirokazu KOBAYASHI

Professor, Laboratory of Plant Molecular Improvement, Department of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences

生活健康科学研究科食品栄養科学専攻
植物機能開発研究室 教授



■ 序論

18世紀後半以降、世界人口は5倍に増大し、その結果、食糧危機や環境汚染が深刻化している。また、日本は世界の最長寿国であり、老人人口はここ20年間で倍増した、これに伴い生活習慣病が大きな社会的問題となってきた。このような状況において、「植物」に注目が払われるべきであろう。植物は、食物連鎖の頂点に位置する人類にとって、直接的かつ間接的な主たる食糧源であり、生活習慣病を予防する機能性成分あるいはバイオ燃料の生産、また環境保全に欠くことのできない資源である。このような植物の重要性は、植物に特徴的な細胞内小器官である「葉緑体」の光合成機能に依存する。一方、塩析出土壌は、世界規模ではアメリカ合衆国の国土面積に匹敵し、さらにその被害は拡大し続けている。植物の活用を目指し、葉緑体の機能構築および塩適応の制御機能について研究した。

■ 成果

遺伝子操作は植物を改良する上で最も強力な方法論である。しかしながら、社会に受け入れられる技術革新が望まれる。動物が同化できない分岐鎖アミノ酸の生合成に必要なアセト乳酸合成酵素(ALS)の遺伝子に注目し、これに変異を導入後、各種除草剤との組み合わせにおいて、核形質転換の選択マーカーあるいは葉緑体に代表されるプラスチドの形質転換における維持マーカー(Fig.1)として使用した。一方、光合成電子伝達における不均衡は、光化学系(PS)IとIIのアポタンパク質遺伝子の発現比の光制御により是正される。プラスチドRNAポリメラーゼの主たる σ 因子(SIG1)は、電子伝達系プラストキノン(PQ)のレドックスに応答し、この制御において重要な役割を演じていた(Fig. 2)。塩応答に関し、光合成成長塩耐性突然変異系統(*pst*)等を選抜した。DNAマイクロアレイ解析により、*pst2*における転写因子bHLH19の高発現を見いだした。さらに、bHLH19遺伝子を強制発現させることにより、シロイヌナズナへの塩耐性付与に成功した(Fig. 3)。

■ 展望

アメリカ合衆国農務省は、2011年7月に、パーティクルガンによりすべて植物由来の遺伝子を導入した芝を遺伝子組換えの規制外とする判断を下した。この判断は、同一の基準で進めてきた葉緑体機能増強や塩耐性付与、さらに機能性成分強化を指向する本研究を支持し、さらに社会貢献に結び付けるものである。

■ Introduction

The world's population has increased about 5-fold since the late 18th century, resulting in problems of food scarcity and environmental pollution. Meanwhile, the aged population in Japan having doubled in the past two decades, it is now the most aged country in the world, magnifying the problem of lifestyle-related illnesses. We need to assess plants that are major sources necessary for foods directly or indirectly through food chains, nutraceuticals that can protect against lifestyle-related illnesses, and biofuels. Plants derive these capacities from photosynthetic activity in chloroplasts in their intracellular compartments. On the other hand, salt accumulated on soil surfaces is a serious problem; globally salt-affected areas are presently collectively the size of the entire United States and expanding. We focused on the aspects of applications of regulation of biogenesis of chloroplasts and adaptation to environmental stresses such as salt.

■ Results

Genetic engineering is the most powerful methodology for improving plants if it achieves acceptance by consumers. We mutagenized the gene for acetolactate synthase (ALS), a key enzyme in biosynthesis of branched chain amino acids that animals cannot assimilate, and used it in combination with herbicides as a selectable marker for nuclear transformation or a sustainable marker for transformation of plastids including chloroplasts (Fig. 1). Imbalances in photosynthetic electron transfer are corrected by light control of the rate of expression of genes encoding apoproteins of photosystem (PS) I and II. We found that the major sigma factor in plastid RNA polymerase, SIG1, plays a crucial role in regulation of expression of those genes in response to the redox state of plastoquinone (PQ), which is a connecting electron carrier (Fig. 2). We screened *photoautotrophic salt tolerance* (*pst*) mutants and others, and found greater expression of basic helix-loop-helix 19 (bHLH19) by DNA microarray analysis in the *pst2* mutant. Over-expression of the alternatively-spliced mRNA species of *bHLH19* results in transgenic *Arabidopsis* that is more tolerant to salt than the wild type (Fig. 3).

■ Perspectives

The US Department of Agriculture has recently announced that it does not regulate a kind of transgenic grass made with all plant-derived genes by particle bombardment. This provides encouragement for all our trials involving such elements, our trials being directed toward improving plants by enhancing chloroplast function and salt tolerance, as well as enrichment with nutraceuticals.

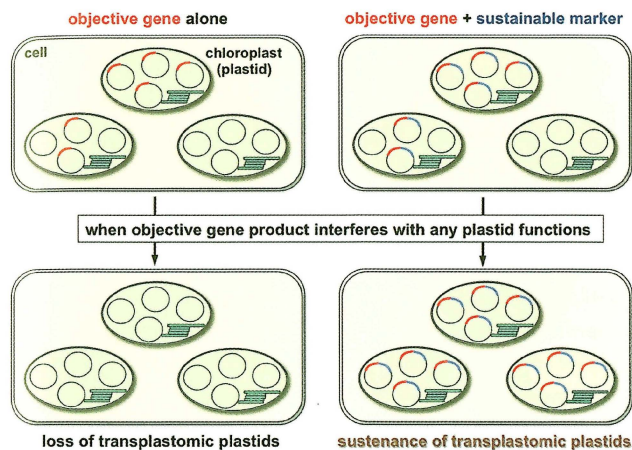
Profile

2006- 静岡県立大学生生活健康科学研究科長
 2011年 静岡県立大学生生活健康科学研究科教授
 2003年 静岡県立大学生生活健康科学研究科教授
 1993年 岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研究所客員助教(兼任)
 1991年 静岡県立大学生生活健康科学研究科助教
 1984年 名古屋大学アイソトープ総合センター助手
 1983年 ハーバード大学生物学教室日本学術振興会海外特別研究員
 1982年 名古屋大学大学院農学研究科博士課程修了
 1977年 鳥取大学農学部卒業

2006- 2011 2003 Dean, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka
 Professor, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka
 1993 1991 Associate Professor (Adjunct), National Institute for Basic Biology
 Associate Professor, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka
 1984 1983 Research Associate, Radioisotope Research Center, Nagoya University
 JSPS Postdoctoral Fellow for Research Abroad, Biological Laboratories, Harvard University
 1982 Ph.D., Plant Biochemistry, Graduate School of Agriculture, Nagoya University
 1977 Graduate, Faculty of Agriculture, Tottori University

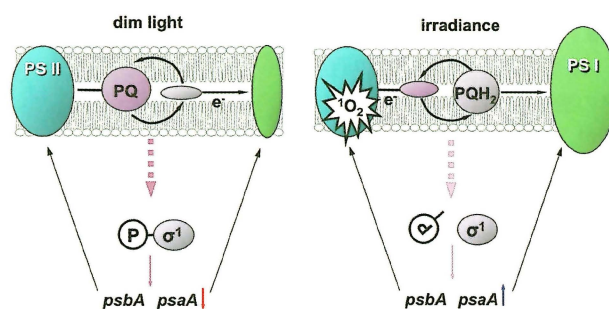
Contact

T E L 054-264-5582
 +81-54-264-5582
 e-mail hirokoba@u-shizuoka-ken.ac.jp
 U R L http://sfn.s.u-shizuoka-ken.ac.jp/pctech/



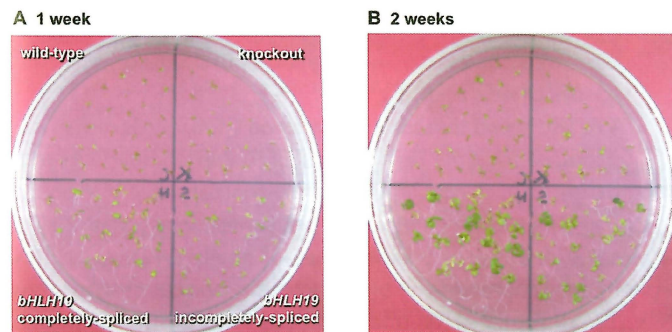
[図1] タバコ形質転換プラスチドの維持マーカーとしての植物由来変異型ALS (mALS) 遺伝子の役割。本法は、レタスにも適用され得る。

[Figure 1] Role of sustainable markers in genetically engineered plastid (transplastomic) lines of tobacco. We employed plant-derived mutated ALS (mALS) genes. This strategy is applicable to vegetables such as lettuce.



[図2] SIG1 (σ^1) のリン酸化を介した葉緑体遺伝子発現の光制御。PQのレドックス状態は、光の強度と波長によって変わる。PS I 反応中心アポタンパク質遺伝子 *psaA* は、PQH₂により誘導され、酸化型PQにより抑制される。一方、PS II 反応中心 D1タンパク質遺伝子 *psbA* の発現は、PQレドックスへの依存性が低いため、強光下において活性酸素の発生が回避される。

[Figure 2] Light control of chloroplast gene transcription via phosphorylation of SIG1 (σ^1). The intensity and wavelength of light changes the redox status of PQ. Expression of *psaA*, encoding the apoprotein of the PS I reaction center, is induced by PQH₂ and repressed when PQ is oxidized. Expression of *psbA*, encoding the D1 protein of the PS II reaction center, is less affected by the redox status, thus no reactive oxygen species were generated under irradiant conditions.



[図3] bHLH19遺伝子導入シロイヌナズナの塩耐性。“wild-type”、野生系統Col-0; “knockout”、bHLH19遺伝子破壊系統; “completely-spliced”および“incompletely-spliced”、bHLH19 cDNA高発現系統。これらの系統は、75 mM NaCl含有Murashige-Skoog培地において、表記の期間培養された。

[Figure 3] Salt-tolerance of *Arabidopsis* lines transgenic with bHLH19 gene. We generated “wild-type”, Col-0; “knockout”, bHLH19 knocked-out; and “bHLH19 completely-spliced” and “bHLH19 incompletely-spliced”, bHLH19 cDNA from alternatively spliced mRNA species. We grew these lines during the indicated periods after sowing on Murashige-Skoog solid medium containing 75 mM NaCl.

代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. M. Shimizu, K. Kawai, K. Kaku, T. Shimizu, and H. Kobayashi: Application of mutated acetolactate synthase genes for herbicide resistance to plant improvement. In "Herbicides, Theory and Applications" (S. Soloneski, and M. L. Larramendy, eds.), InTech, pp. 193-212 (2011)
2. M. Shimizu, H. Kato, T. Ogawa, A. Kurachi, Y. Nakagawa, and H. Kobayashi: Sigma factor phosphorylation in the photosynthetic control of photosystem stoichiometry. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 10760-10764 (2010)
3. A. Ahmad, I. Kaji, Y. Murakami, N. Funato, T. Ogawa, M. Shimizu, Y. Niwa, and H. Kobayashi: Transformation of *Arabidopsis* with plant-derived DNA sequences necessary for selecting transformants and driving an objective gene. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 73, 936-938 (2009)
4. M. Shimizu, M. Goto, M. Hanai, T. Shimizu, N. Izawa, H. Kanamoto, K.-I. Tomizawa, A. Yokota, and H. Kobayashi: Selectable tolerance to herbicides by mutated acetolactate synthase genes integrated into the chloroplast genome of tobacco. *Plant Physiol*, 147, 1976-1983 (2008)