



遺伝子組換えにより スギ花粉形成を抑制する技術を開発

ポイント

- ・ RNA 分解酵素（バルナーゼ）遺伝子を用いたスギ花粉形成抑制技術を開発しました。
- ・ 本成果は、遺伝子組換えによりスギに意図した形質を付与できることを示した初めての成功例です。

概要

独立行政法人森林総合研究所は、微生物を介してスギの培養細胞に遺伝子を導入する遺伝子組換え技術を利用し、RNA（注1）分解酵素（バルナーゼ）遺伝子をスギに導入し、タペート層と呼ばれる花粉を取り囲んでいる組織で発現させることによりスギの花粉形成を抑制する技術を開発しました。さらに、本技術を用いて作製した遺伝子組換えスギに着花を促進するジベレリン処理を行い、花粉を形成しないことを実験的に検証しました。

森林総合研究所では、花粉症対策としてこれまでも様々な技術開発に取り組んでまいりましたが、今回の研究成果により、遺伝子組換え技術による花粉症対策品種の開発も、今後の十分な時間をかけた効果と安全性の検証を行った上で、将来的には花粉症対策の選択肢の一つとなり得ると考えております。

予算：林野庁委託事業「遺伝子組換えによる花粉発生制御技術等の開発事業」
農林水産省委託プロジェクト研究「遺伝子組換え生物の産業利用における安全性確保総合研究」

問い合わせ先など

独立行政法人 森林総合研究所 理事長 鈴木 和夫
研究推進責任者：森林総合研究所 研究コーディネータ 篠原 健司
研究担当者：森林総合研究所 森林バイオ研究センター
森林バイオ研究室長 谷口 亨
広報担当者：森林総合研究所 林木育種センター
育種企画課長 関 充利

TEL：0294-39-7002 FAX：0294-39-7306
森林総合研究所 企画部 研究情報科長 秦野 恭典

本資料は、林政記者クラブ、農林記者会、農政クラブ、茨城県政記者クラブ、日立市役所記者クラブ、筑波研究学園都市記者会に配布しています。

背景・経緯

スギ花粉症は昭和 38 年、日光市で初めて報告されました。その後、花粉症の発症率は全国的に増加し、現在では国民の 4 人に 1 人が花粉症と言われ、我が国の大きな社会問題の一つになっています。林業分野におけるスギ花粉症対策の基本は、花粉発生源を減少させることです。そのため、森林総合研究所は、都市部に影響を及ぼす花粉発生源の特定、薬剤や森林管理による花粉抑制技術の開発、花粉の少ないスギ精英樹（注 2）の選抜、無花粉スギの新品種の開発等に取り組んできました。

現在、開発されているスギの花粉症対策品種は、少花粉品種が 135 品種、無花粉品種は 2 品種あるものの、地域的に偏りがあることから、花粉発生源を減少させる対策を進めていくためには、さらに森林所有者等に受け入れられてきた地域になじんだ品種の無花粉化など、新たな手法による品種開発を行う必要があります。このため、新たな手法の一つとして、遺伝子組換えにより花粉発生を抑制する技術の開発を進めてまいりました。

成果

森林総合研究所はこれまで困難とされていたスギの遺伝子組換え技術に関して、不定胚形成細胞と呼ばれる不定胚（注 3）を形成する能力をもつ培養細胞を誘導し、そこから不定胚を経て植物体を再生するシステムを 2000 年に開発しました。その後、土壌微生物アグロバクテリウム（注 4）を介し、植物に遺伝子組換えを行う手法であるアグロバクテリウム法により、不定胚形成細胞に遺伝子を導入し、不定胚形成細胞から不定胚分化を経て遺伝子組換えスギを再生する遺伝子組換えシステムも、2008 年に開発しております（図 1）。

このスギの遺伝子組換えシステムを利用し、雄性不稔化（注 5）した無花粉スギを作製することを目指しました。花粉は、雄花のタペート層（注 6）と呼ばれる花粉を取り囲む細胞層から養分や物質を受け、発達します（図 2）。従って、タバコなどの被子植物で示されているように、スギにおいてもタペート層が破壊されると、花粉が発達できなくなると考えられ、このことを利用したスギの無花粉化技術の開発を進めました。

他の研究グループにより、バチルス・アミロリケファシエンス（注 7）という自然界に一般に存在する菌類が作る RNA 分解酵素バルナーゼの生成に関わるバルナーゼ遺伝子を植物に導入し、これをタペート層で作用させ植物の雄性不稔化に成功した例があります。タペート層で作られたバルナーゼが、タンパク質の生成に関わる RNA を分解し、生命活動に必要なタンパク質がタペート層で生成されなくなったことにより、タペート層が破壊されたものと考えられます。

本研究では、スギにバルナーゼ遺伝子を導入しタペート層を破壊することによる雄性不稔化を目指しました。バルナーゼの発現を制御するためのプロモーター（注 8）としては、スギの雄花で特異的に発現する遺伝子のプロモーターをスギから新たに単離し利用することにしました。この遺伝子をスギの学名（*Cryptomeria japonica*）の頭文字と雄性を意味する英語である“male”から、*CjMALE1* 遺伝子と名付けました。*CjMALE1* 遺伝子のプロモーターの発現解析を行った結果、このプロモーターは雄花のうちのタペート層や将来花粉となる減数分裂細胞で発現することが示されました（図 3）。*CjMALE1* 遺伝子のプロモーターにバルナーゼ遺伝子を連結したベクター（注 9）を構築し、スギに遺伝子導入したところ、遺伝子組換えスギはほとんど得られず、また、わずかに得られた遺伝子組換えスギの多くは形態異常が見られました。その原因として、*CjMALE1* 遺伝子のプロモーターはスギの雄花での発現の特異性が高いものの、雄花以外の細胞でバルナーゼ遺伝子がわずかに発現し、細胞致死や形態異常を引き起こしたと考えられました。

そこで、パチルス・アミロリケファシエンスにおいてバルナーゼの阻害因子として働く物質であるバルスターを用いてスギの雄花以外の組織におけるバルナーゼの活性を阻害することとし、バルナーゼ遺伝子とバルスターの生成に関わるバルスター遺伝子を組み合わせたベクターを構築しました(図4)。また、バルスター遺伝子の発現を制御するためのプロモーターとして、遺伝子組換えにおいて導入した遺伝子を植物体全体で機能させるためによく用いられる *NOS* 遺伝子(注10)のプロモーターを用いました。*CjMALE1* 遺伝子のプロモーター、バルナーゼ遺伝子、*NOS* 遺伝子のプロモーター、バルスター遺伝子を連結したベクターを導入した組換えスギを作製し、温室で栽培したところ順調に生育を続けました。20cm程度に成長した苗木に、植物の着花を促進する作用を持つ植物ホルモンであるジベレリンを噴霧して人為的に着花させ、半年後に花粉形成能力を評価したところ、花粉を全く作らないことを確認することができました(図5)。

今回、遺伝子組換えにより、スギを雄性不稔化することに初めて成功しました。強い活性を持つRNA分解酵素バルナーゼをタペト層で作用させると同時に、バルナーゼの阻害因子であるバルスターを植物体全体で作用させることにより、スギの雄性不稔化が可能となることを明らかにしました。バルナーゼ遺伝子とバルスター遺伝子を導入することによる植物の雄性不稔化は、タバコなどの他の植物で既に示されていますが、樹木では今回が初めてとなります。

成果の意義と今後の展望

今回の研究成果の中で今後の森林・林業分野における研究開発の進展に資するポイントは以下のとおりです。まず、遺伝子組換えにより樹木に意図した形質を意図したとおりに付与できたことは、今後の遺伝子組換え技術を樹木に適用し、様々な望ましい形質を樹木に付与できる可能性を示しています。さらに、遺伝子組換えによるスギの雄性不稔化に成功したことは、我が国の大きな社会問題の一つになっている花粉症に対して、遺伝子組換え技術による花粉症対策品種の開発も、今後の対策の選択肢の一つとなることを示す重要な成果であると考えています。

しかしながら、今回開発した技術はいずれもまだ実験段階であり、今後十分な時間をかけて今回開発した技術の効果と安全性の検証を行うことが必要となります。その際に、丁寧に国民の理解を得ながら研究を進めていくことが何よりも不可欠であると考えております。

用語の解説

(注1) RNA: 生物が持つ遺伝情報を規定する化学物質であるDNA(デオキシリボ核酸)から遺伝子が発現してタンパク質を合成する際に、DNA情報で必要な部分のみを写し取り、タンパク質合成のもととなる化学物質。

(注2) 精英樹: 成長の早いこと、単位面積当たりの収穫量が多いこと、幹が通直であること、病気や虫の害がないこと等を基準に全国の森林から選抜した個体。

(注3) 不定胚: 種子中にある胚と類似の構造をもつ人工的に作製した胚を不定胚という。不定胚を形成する能力を持つ細胞が不定胚形成細胞である。スギを含む多くの針葉樹では不定胚形成細胞は未熟種子からのみ誘導が可能である。

(注4) アグロバクテリウム: グラム陰性菌に属する土壌細菌の一種で、植物細胞に感染してDNAを送り込む性質があるため、植物の遺伝子組換えでよく利用される。学名 *Rhizobium radiobacter* (旧学名は *Agrobacterium tumefaciens*)

- (注 5) 雄性不稔化：花粉等の雄性器官が正常に発達できなくなること。
- (注 6) タペート層：花粉を取り囲む細胞層であり、花粉形成に必須の組織。タペート層が花粉発達に必要な養分や物質を発達途中の花粉に供給する。
- (注 7) バチルス・アミロリケファシエンス：自然界に一般的に存在するグラム陽性桿菌であるバチルス菌の一種で枯草菌や納豆菌の類縁菌。学名 *Bacillus amyloliquefaciens*
- (注 8) プロモーター：遺伝子発現のスイッチとなる DNA 領域。遺伝子が働く時期や場所を制御している。
- (注 9) ベクター：遺伝子導入する時に、目的遺伝子を増やしたり、導入したり取り扱いやすいようにコンパクトにまとめた DNA。
- (注 10) *NOS* 遺伝子：アグロバクテリウムに由来するノパリン合成酵素遺伝子。ノパリンとはアグロバクテリウムがエネルギー源として代謝するアミノ酸の一種である。*NOS* 遺伝子のプロモーターに連結して導入した遺伝子は、植物体全体で発現すると期待できる。

本成果の発表

第 124 回日本森林学会大会（3 月に岩手大学で開催）で発表予定

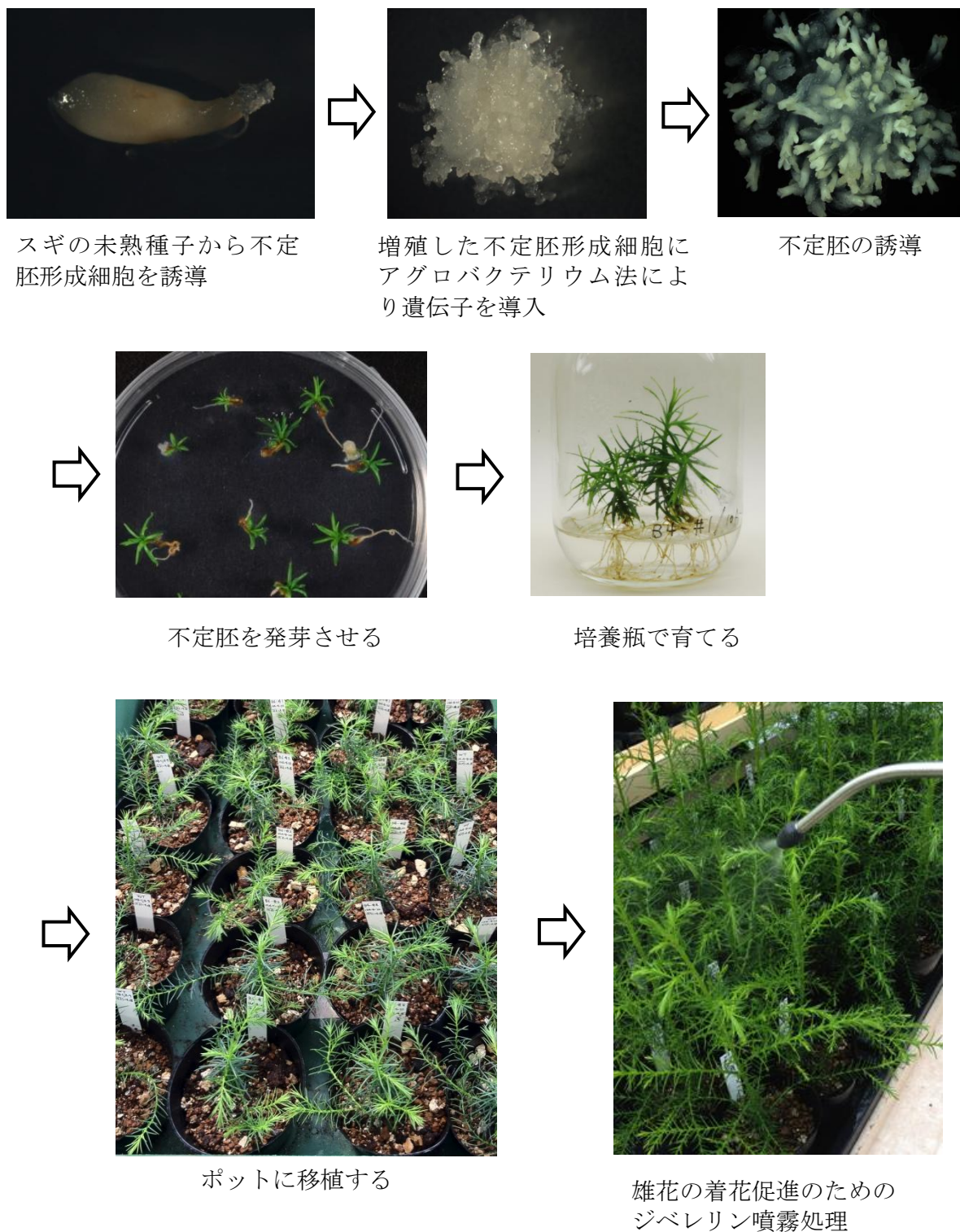


図1 スギの遺伝子組換えの手順と雄性不稔化の検証

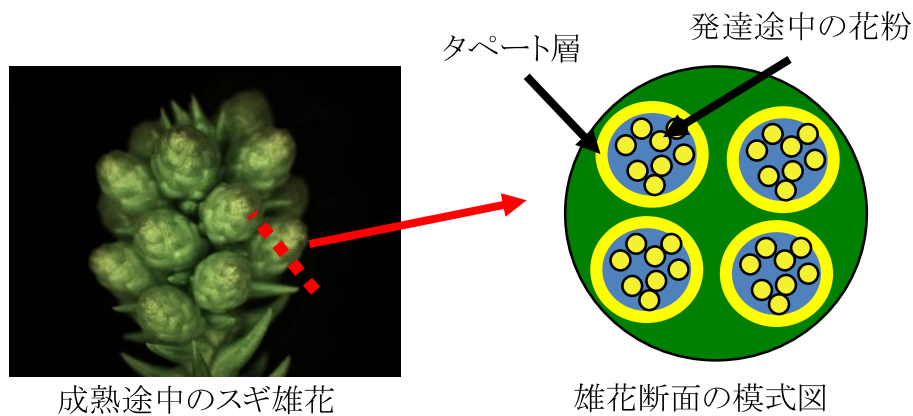


図2 タペート層と花粉の形成

タペート層とは花粉を取り囲む細胞層であり、花粉形成に必須の組織です。タペート層が花粉発達に必要な養分や物質を発達途中の花粉に供給します。

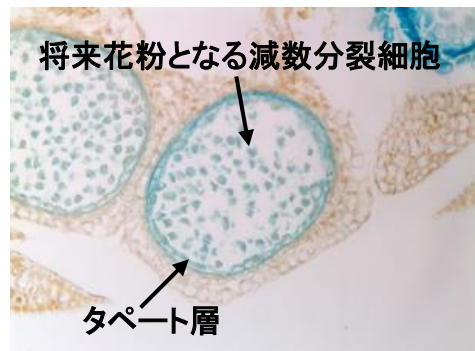


図3 *CjMALE1* 遺伝子のプロモーターの発現解析

青色の部分は、プロモーターが機能する細胞を示しています。

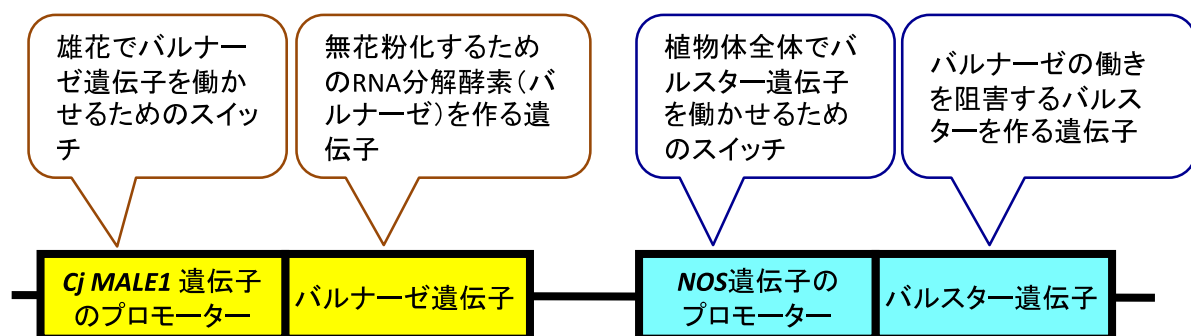


図4 バルナーゼ遺伝子とバルスター遺伝子を組み合わせたベクターの模式図

野生型スギ

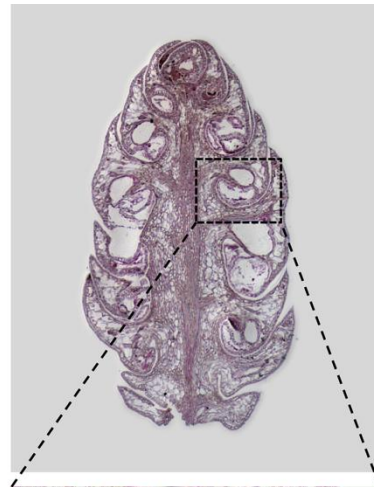
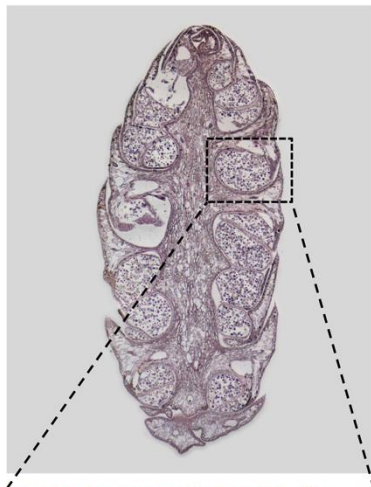
遺伝子組換えスギ

雄花



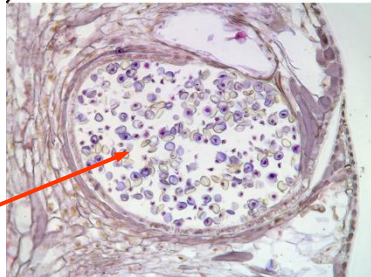
遺伝子組換えスギも野生型スギ（遺伝子を導入していないスギ）と同じようにジベレリンの作用で雄花が着花し、外見的には区別が付きません。

雄花断面

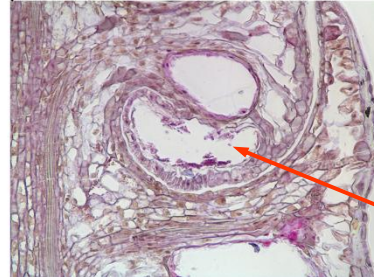


雄花断面
(拡大図)

花粉が多数
あります。

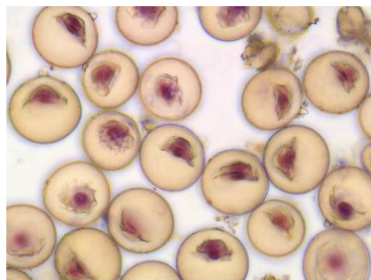


花粉は
ありません。



野生型スギでは雄花の中には花粉がありました（左）、遺伝子組換えスギでは花粉はありません（右）。

雄花から
取り出した
花粉



野生型スギでは雄花を潰すと中から多数の花粉が出てきましたが（左）、遺伝子組換えスギでは花粉は全く出てきません（右）。

図5 遺伝子組換えスギの雄花とその断面