

令和元年6月11日現在

機関番号：12605

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19384

研究課題名(和文)ATP含量を高めた形質転換ラン藻及び植物の開発

研究課題名(英文)Development of transformed cyanobacteria and plants with increased ATP content

研究代表者

山田 晃世(Yamada, Akiyo)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30293012

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：海洋ラン藻*Synechococcus* sp. NKBG15041cは極めて増殖が早い。大腸菌を用いた機能スクリーニングにより、この株から大腸菌の増殖や耐熱性を向上するc32.05遺伝子が見いだされた。c32.05タンパク質にはATP非依存のシャペロン様の活性を有し、大腸菌の生育やストレス耐性を向上させる機能を有する事が確認された。c32.05をシロイヌナズナに導入し、その生育を確認した結果、大腸菌における場合と同様に形質転換シロイヌナズナに各種ストレス耐性の向上と生育の促進が認められた。本遺伝子の利用は、温暖化による植物のダメージを軽減する有効な手段になる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋ラン藻*Synechococcus* sp. NKBG15041cは極めて早い、その原因は全く分かっていなかった。本研究で見いだされたc32.05はシャペロン様活性を有し、この株が進化の過程で獲得した遺伝子の1つであると考えられた。温暖化やそれに伴う環境の変化で高等植物の生育環境は悪化の一途をたどっている。本研究で得られたc32.05の有効利用はこれらの問題を解決する有効な手段になり得ると期待できる。

研究成果の概要(英文)：The marine cyanobacteria *Synechococcus* sp. NKBG15041c grow extremely rapidly. By functional screening using *E. coli*, the c32.05 gene was found to improve the growth and heat resistance of *E. coli* from this strain. The c32.05 protein was confirmed to have an ATP-independent chaperone-like activity and to have a function to improve *E. coli* growth and stress tolerance. As a result of introducing c32.05 into *Arabidopsis thaliana* and confirming its growth, transformed *Arabidopsis thaliana* was found to improve various stress tolerances and promote growth as in the case of *E. coli*. Use of this gene is an effective means to reduce damage to plants caused by global warming.

研究分野：植物生理学

キーワード：耐塩性 シャペロン様タンパク質 ATP 環境ストレス耐性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

*Synechococcus* sp. NKBG15041c は沖縄県沿岸から単離された海洋ラン藻で、極めて増殖が早いことが知られている。これまでに *Synechococcus* sp. NKBG15041c より構築されたゲノムライブラリーから、大腸菌を用いた機能スクリーニング法(PCT/JP00/04862) で、大腸菌に対し増殖促進や、各種ストレス耐性向上をもたらす遺伝子 c32.05 が見出されている (特願2015-161736)。しかしながら、この遺伝子がコードするタンパク質の機能や *Synechococcus* sp. NKBG15041c における発現と各種環境ストレスとの関係は全く分かっていない。さらに、c32.05 を高等植物で発現した場合、形質転換植物の生育や各種ストレス耐性への影響について全く解っていない。温暖化等の影響から植物の生育環境は変化しつつあり、農林業等への影響が懸念されている。

#### 2. 研究の目的

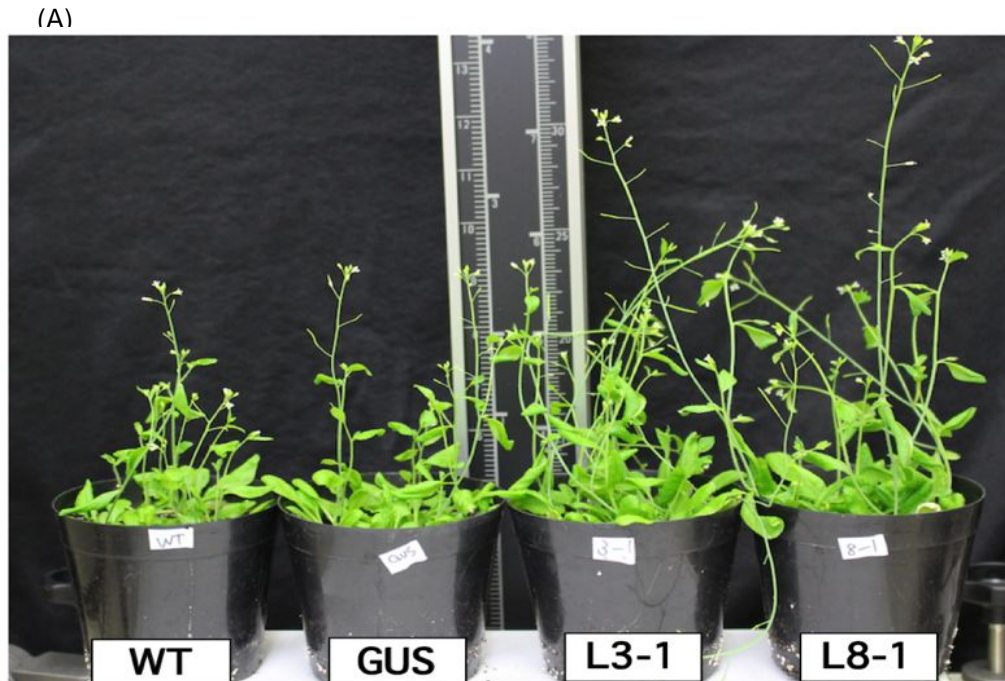
大腸菌に対し、各種ストレス耐性向上をもたらす遺伝子 c32.05 に着目し、この遺伝子がコードするタンパク質の機能を明らかにする。また、この遺伝子を発現する形質転換シロイヌナを作出し、非ストレス条件下での生育への影響や、耐塩性、耐熱性への影響を検証する。

#### 3. 研究の方法

35SCaMV プロモーターを有する植物発現ベクターpAB7113 に c32.05 を導入し、これをアグロバクテリウム法で、シロイヌナズナに導入した。T2 ホモ個体を複数選抜し、遺伝子の発現と生育への影響を評価し、大腸菌における効果と比較した。

#### 4. 研究成果

c32.05 の発現と生育への影響を検討した。野生株(WT)と GUS 遺伝子を導入した形質転換シロイヌナズナを対照として用いた。c32.05 が導入された形質転換体には L3-1 と L8-1 を使用した。L3-1 と L8-1 にはそれぞれ c32.05mRNA の発現が確認されている。そこで、c32.05 を発現した形質転換シロイヌナズナの生育を検証した (図1)。



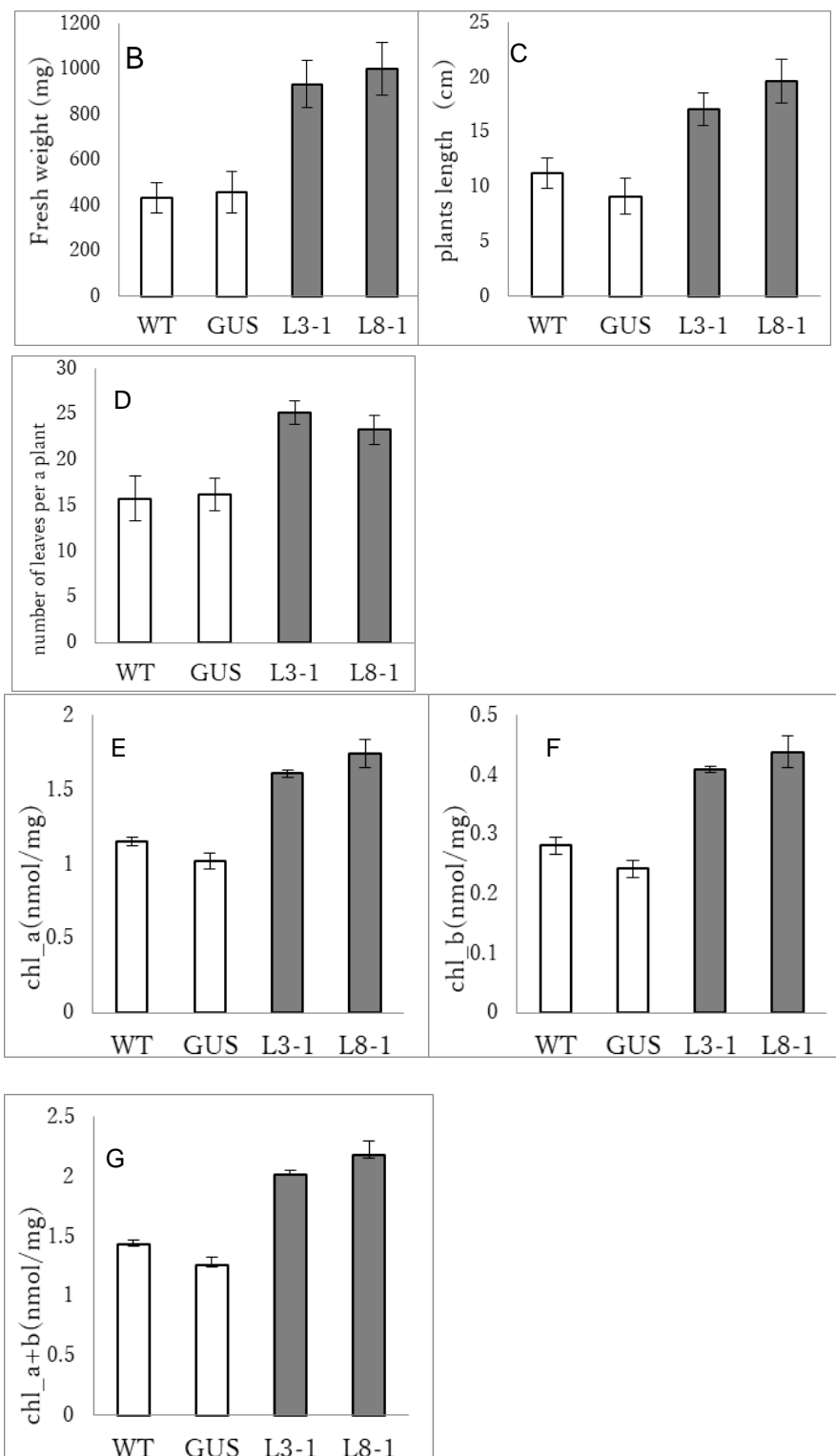


Fig. 1 非ストレス条件下での c32,05 形質転換シロイヌナズナの生育

MS 寒天培地で 14 日生育させたのち、土ポッドに植え継ぎ 28 日間生育させた。(A) は測定時の植物。各植物を (B) 生重量、(C) 植物丈、(D) 葉の枚数、(E) 葉のクロロフィル a、(F) 葉のクロロフィル b 含有量、および (G) 葉の総クロロフィル含有量。(C)(D)(E) は 15 の独立した実験の平均値 ± SE である。(F)(G)(H) は 3 の独立した実験の平均値 ± SE である。以上の結果から c32.05 を発現した形質転換植物には大腸菌における場合と同様に生育促進効果が認められた。

さらに、生育促進効果は塩ストレス条件下(200 mM)、高温条件下(33 )の条件下においても、非ストレス条件 (Fig. 1) と同様に c32.05 形質転換体で生育促進効果が認められた。

c32.05 タンパク質にはシャペロン様活性が確認されており、c32.05 タンパク質による形質転換シロイヌナズナの細胞内タンパク質の安定発現が生育促進をもたらしている可能性が考えられた。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

[学会発表] (計4件)

[図書] (計0件)

[産業財産権]  
出願状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年:  
国内外の別:

取得状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名: 北 鴻介

ローマ字氏名: Kita Kousuke

研究協力者氏名: 関俣旺介

ローマ字氏名: Sekimata Ousuke

研究協力者氏名: 芳須仁美

ローマ字氏名: Yoshisu Hitomi

研究協力者氏名: 高山隼

ローマ字氏名: Takayama Hayato

研究協力者氏名: 大江久美子

ローマ字氏名: Ooe Kumiko

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。