

15.	カナマイシン耐性遺伝子組換えタバコにおける形質発現と摂食昆虫に対する影響						
<p>要約 組換え植物作出のためのマーカー遺伝子であるカナマイシン耐性遺伝子(NPTII 遺伝子)は、その導入された組換えタバコの各器官で発現したが、同植物を摂食した昆虫の寿命・産仔数に影響は認められなかった。</p>							
農環研 資材動態部 農薬動態科 除草剤動態研究室						連絡先	0298-38-8329
部会名	農業生態	専門	環境保全, バイテク	対象		分類	研究

〔背景・ねらい〕

組換え植物を作出する際には、目的とする遺伝子が導入された細胞を選抜するために抗生物質耐性遺伝子等をマーカー遺伝子として同時に導入するが、これらは組換え植物作出の最初の過程で利用され、一般的にはその後必要とされない。

組換え植物に残るこれらのマーカー遺伝子、およびその翻訳により生じた酵素タンパク質や、酵素による代謝物等が生態系に与える影響についてはまだ明確に示されてはおらず、その影響評価法のみならず、影響評価の必要性もいまだ議論の段階にある。

本研究では、マーカー遺伝子として汎用されるカナマイシン耐性遺伝子の一つであるNeomycin Phosphotransferase II (NPTII) 遺伝子を取り上げ、組換えタバコにおける本遺伝子の発現と、NPTII タンパクを含む植物を摂食した昆虫への影響評価を試みた。

〔成果の内容・特徴〕

- ① nosプロモーターに接続されたNPTII 遺伝子により組換えタバコはカナマイシン耐性を獲得し、その形質は自家受粉により安定して後代へ維持されることを6世代目の植物まで確認した。NPTII 酵素活性は、発芽時のみでなく、幼苗・成植物の緑葉、花、根、黄化した葉においても検出された。しかし、枯死乾燥した葉では活性が検出されなかった(表1)。
- ② NPTII 遺伝子を導入したタバコを餌として飼育したモモアカアブラムシ幼虫およびハスモンヨトウ終齢幼虫の食餌内容物を含む消化管(中腸・後腸)、糞からはNPTII 活性は検出されず、消化の過程で活性は失われると考えられた(表1)。
- ③ 1頭の雌から単為生殖により得られたモモアカアブラムシを、個体毎に、NPTII 遺伝子を導入した組換えタバコと非組換えタバコで幼苗を餌として8世代にわたり累代飼育したが、産仔数および生存日数に有為な差は認められなかった(表2)。

〔成果の活用面・留意点〕

組換え植物の抗生物質耐性遺伝子マーカーの圃場生物に対する具体的な影響評価についてはほとんど実施されておらず、本研究はその一例として貴重である。

[具体的データ]

表1 NPT II酵素活性の検出

	花	腋芽緑葉	黄化葉	枯死葉	幼苗緑葉	幼苗根
タバコ系統						
非組換え体	-	-	-	-	-	-
組換え体A	+	+	+	-	+	+
組換え体B	+	+	+	-	+	+
組換え体C	-	+	+	-	+	+
ハスモンヨトウ終齢幼虫						
モモアカアブラムシ幼虫						
食餌タバコ系統	中腸	後腸	糞			
非組換え体	-	-	-	-		
組換え体A	-	-	-	-		
組換え体B	-	-	-	-		
組換え体C	-	-	-	-		

+：酵素活性有り -：酵素活性なし

NPT IIはネオマイシン（カナマイシン）をリン酸化し不活性化する酵素である。
ここでは[γ -³²P] ATPを用い、リン酸化されたネオマイシンをオートラジオグラフィにより検出した。

表2 NPT II遺伝子導入植物のモモアカアブラムシの産仔数・生存日数に対する影響

(1) 平均産仔数[単位：頭(標準誤差)]

	アブラムシ世代	4世代	5世代	6世代	7世代	8世代
タバコ系統						
非組換え体		81(8.5)	87(6.9)	74(9.6)	94(6.9)	78(7.8)
組換え体A		71(10.1)	78(7.5)	71(7.7)	105(3.0)	70(9.9)
組換え体B		78(8.1)	81(6.4)	84(10.7)	77(9.5)	81(9.5)
組換え体C		76(9.3)	87(5.9)	83(8.1)	94(4.4)	71(9.8)

(2) 平均生存日数[単位：日(標準誤差)]

	アブラムシ世代	4世代	5世代	6世代	7世代	8世代
タバコ系統						
非組換え体		34(3.1)	33(3.7)	29(3.8)	32(3.3)	30(4.0)
組換え体A		27(3.6)	26(2.7)	32(4.6)	40(2.9)	26(3.3)
組換え体B		30(3.3)	31(3.3)	37(4.4)	32(4.8)	34(4.2)
組換え体C		31(4.1)	29(3.4)	31(4.0)	37(3.1)	28(4.0)

飼育は1頭ずつ行い、各数値は12頭の平均値である。

飼育条件：16時間明(22℃) - 8時間暗(20℃)

[その他]

研究課題名：各種マーカー遺伝子（抗生物質耐性遺伝子等）の影響評価

予算区分：バイテク〔アセスメント手法〕

研究期間：平成5年度（平成2～4年）

研究担当者：石坂真澄、上路雅子

発表論文等：導入遺伝子の影響評価（1）マーカー遺伝子，農林水産技術会議事務局・農業環境技術研究所「組換え体の生態系導入のためのマニュアル」，55-57（1993）