

タバコに導入したサツマイモ斑紋モザイクウイルス外被タンパク質遺伝子の発現解析

木村貴志・田中裕子・花田 薫¹⁾・斎藤 彰 (九州沖縄農業研究センター・¹⁾ 農業生物資源研究所)

Takashi Kimura, Yuko Tanaka, Kaoru Hanada and Akira Saito :

Expression analysis of the sweet potato feathery mottle virus coat protein gene introduced into tobacco

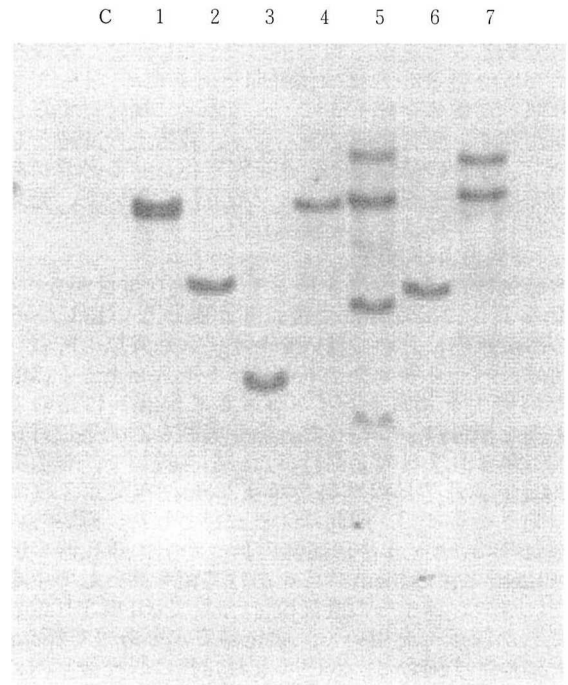
植物における外来遺伝子の発現には、植物遺伝子のゲノミッククローンをセンス方向に導入する場合等を除き、外来のターミネーターを利用することが必要であり、これにより外来遺伝子 mRNA のポリ (A) 付加と転写終結が確実に行われる。現在、外来のターミネーターとして主にアグロバクテリウムのノパリン合成酵素遺伝子由来の NOS ターミネーターが利用されている。今回、形質転換タバコにおいて、このような外来のターミネーターに依存しない導入遺伝子の転写終結がみいだされたので報告する。

1. 材料および方法

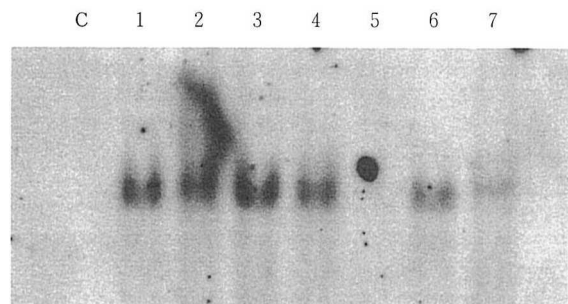
バイナリーベクター pBI121 の GUS 遺伝子 + NOS ターミネーターを、サツマイモ斑紋モザイクウイルス強毒系統 (SPFMV - S) ゲノムの cDNA 上の外被タンパク質 (CP) 遺伝子 + 3' 非翻訳領域で置き換えたベクターを構築した。このベクターをトリペアレンタルメーティング法によってアグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 株) に導入した後、タバコのリーフディスクに感染させて形質転換を行った。カナマイシンで選抜したタバコ植物体における導入遺伝子の確認は CP 遺伝子をプローブに用いたサザンブロット法により行った。この際の DNA の切断には制限酵素 *Xba* I を用いた。この制限酵素の認識部位は、タバコに導入した T-DNA 領域に 1 個所存在する。導入遺伝子の転写産物の解析は CP 遺伝子をプローブに用いたノーザンブロット法により行った。CP タンパクの発現は、抗 CP 抗体を用いたウェスタンブロット法により解析を行った。

2. 結果および考察

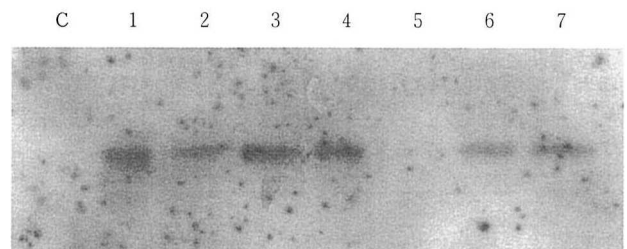
サザンブロット解析によりカナマイシン耐性タバコ植物体における CP 遺伝子の組込みが確認された (第 1 図)。またバンドのパターンよりゲノム上の CP 遺伝子の組込み部位は個体間で異なることが示された。ノーザンブロット解析において明確な CP 遺伝子転写産物のシグナルがみられ、組込み部位に依存せずに一定の個所で CP 遺伝子の転写が終結していることが示唆された (第 2 図)。またこれらの個体において CP タンパクの発現がみられ (第 3 図)、CP 遺伝子転写産物が細胞内で翻訳に利用できるものであることが明らかとなった。SPFMV - S は RNA ウイルスであり、DNA から RNA への転写というステップはゲノム複製の過程において存在しない。したがって今回みいだされた現象は、SPFMV - S の 3' 非翻訳領域が偶然にもタバコにおいて転写終結を促す塩基配列を含んでいることによるものと考えられる。今後は CP 遺伝子転写産物の 3' 末端のマッピングを行うとともに、CP 遺伝子の転写終結の機構を明らかにしたい。



第 1 図 サザンブロット解析

注) C: 非形質転換体
1~7: 形質転換体

第 2 図 ノーザンブロット解析

注) C: 非形質転換体
1~7: 形質転換体

第 3 図 ウェスタンブロット解析

注) C: 非形質転換体
1~7: 形質転換体