
[成果情報名] トルコギキョウの耐暑性に関与する脂肪酸不飽和化酵素遺伝子(*EgFAD7*)の単離

[要約] トルコギキョウ(あずまの粧)のcDNAライブラリーを作製した。これとゲノムDNAをもとに、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子(*EgFAD7*: *Eustoma grandiflorum* Fatty acid desaturase)を単離し、塩基配列を明らかにした。*EgFAD7*は、全長2,307塩基であり、8カ所のエクソンと7カ所のイントロンを持ち、433残基のアミノ酸をコードする。さらに、*EgFAD7*全長をもとにFAD遺伝子RNAiベクターを構築した。

[キーワード] トルコギキョウ、cDNAライブラリー、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子、クローニング、RNAiベクター

[担当部署] バイオテクノロジー部・遺伝子操作チーム

[連絡先] 092-924-2970

[対象作物] 花き・花木

[専門項目] バイテク

[成果分類] 研究手法

[背景・ねらい]

地球の温暖化傾向が進む中、トルコギキョウの安定生産には耐暑性を付与した品種の育成が求められている。しかし、耐暑性遺伝資源が存在しないため、交雑育種で育成することは困難である。そこで、遺伝子組換えにより耐暑性を付与するため、cDNAライブラリーを作製した後、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子を単離して塩基配列を明らかにするとともに、RNAiベクターを構築する。

[成果の内容・特徴]

1. トルコギキョウ「あずまの粧」の葉から抽出したmRNAをもとに、平均長1.3kbpの完全長cDNAを含むcDNAライブラリーを作製した(図1)。
2. 既知FAD遺伝子のアミノ酸配列情報をもとにディジェネレートプライマーを設計して、cDNAライブラリー及びゲノムDNAを鋳型としたPCRにより、トルコギキョウの脂肪酸不飽和化酵素遺伝子(*EgFAD7*)の全塩基配列を明らかにした(図2)。
3. *EgFAD7*は、全長で2,307塩基であり、8カ所のエクソンと7カ所のイントロンを持ち、433残基のアミノ酸をコードする(図2)。
4. *EgFAD7*のアミノ酸配列は、*Perilla frutescens*(シソ)と80.9%の相同性があり、他の植物とも70%以上の相同性がある(表1)。
5. cDNA全長と第5イントロンの塩基配列情報をもとに、FAD遺伝子RNAiベクターを構築した(図3)。

[成果の活用面・留意点]

1. 塩基配列や翻訳されるアミノ酸配列情報は、GeneBank等のDNAデータベースに登録する。
2. 構築したRNAiベクターは、遺伝子組換えによるトルコギキョウの脂肪酸組成比改変(耐暑性付与)に活用できる。
3. 塩基配列の相同性が高い植物にも応用できる。

[具体的データ]

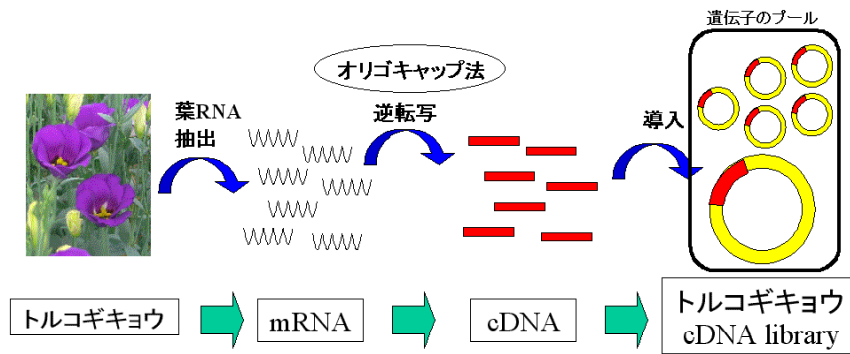


図1 トルコギキョウのcDNAライブラリー作製の流れ

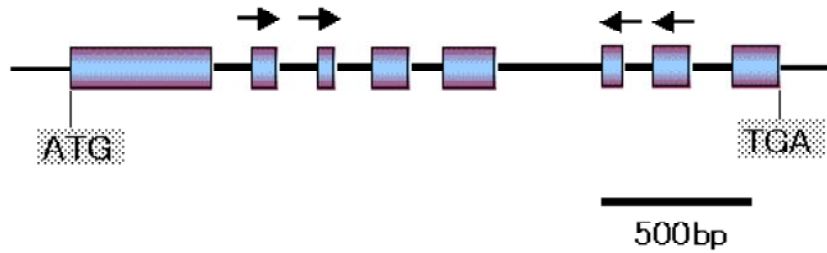


図2 *EgFAD7*の構造

注) 1. →:プライマー ■:エキソン —:イントロン

表1 *EgFAD7*と他植物FAD遺伝子のアミノ酸配列相同性

| 遺伝子及び由来植物 | アミノ酸一致率(%) |
|---|------------|
| FAD <i>Perilla frutescens</i> (シソ). | 80.9 |
| FAD7 <i>Sesamum indicum</i> (ゴマ). | 80.0 |
| FAD7 <i>Nicotiana tabacum</i> (タバコ). | 80.0 |
| FAD <i>Lycopersicon esculentum</i> (トマト). | 77.9 |
| FAD <i>Capsicum annuum</i> (ピーマン). | 79.0 |
| FAD <i>Solanum tuberosum</i> (ジャガイモ). | 78.6 |



図3 *EgFAD7*のRNAiベクターのT-DNA領域

注) RB:Right border, *P-NCR*:SoyCMV noncoding region promoter
HPT:Hygromycin phosphotransferase, *T-35S*:CaMV35S terminator
P-E12Ω:CaMV35S based hyper promoter, *I*:5th Intron
T-NOS:Nopaline synthase terminator, LB:Left border

[その他]

研究課題名：クロスレジスタンス遺伝子のクローニング

予算区分：県特（新世紀スーパー農産物開発事業）

研究期間：平成17年度(平成13～17年)

研究担当者：池上秀利、甲斐浩臣、S. M. Rahman、平島敬太、中原隆夫