
[成果情報名] シクラメンの耐暑性に関与する脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の単離

[要約] シクラメンの脂肪酸不飽和化酵素遺伝子 (CpFAD:Cyclamen persicum Fatty Acid Desaturase gene) をTAIL-PCR法により単離して塩基配列を明らかにした。CpFADは、全長3,939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、435残基のアミノ酸に対応する。さらに、第5、7エクソンの塩基配列情報をもとにCpFADノックダウンベクターを構築した。

[キーワード] シクラメン、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子、遺伝子クローニング、TAIL-PCR法、ノックダウンベクター

[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なか、シクラメン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、交雑育種で育成するには長年月を要する。そこで、遺伝子組換えにより耐暑性を付与するため、植物の温度感受性に関与する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し、ノックダウンベクターを構築する。

[成果の内容・特徴]

- 1 . 保存性の高い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TAIL-PCR法により、シクラメンの脂肪酸不飽和化酵素(CpFAD:Cyclamen persicum Fatty Acid Desaturase)の遺伝子構造と塩基配列を明らかにした(図1)。
- 2 . CpFAD(アミノ酸翻訳領域)は、全長で3,939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、435残基のアミノ酸に対応する(図1)。
- 3 . アミノ酸配列の相同性は、他の植物と比較して第1と第8エクソンで低く、全長では70~77%程度である(図1、2)。
- 4 . 8種エクソンのうち、相同性の高い第5、7エクソンと第4イントロンの塩基配列情報を基に、FAD遺伝子ノックダウンベクター(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やSWISS-PROT等のデータベースに登録する。
- 2 . 構築したノックダウンベクターは、遺伝子組換えのよるシクラメンの脂肪酸組成比改変(耐暑性付与)に活用できる。
- 3 . 第5、7エクソンの塩基配列の相同性が高い植物に活用できる。

[具体的データ]

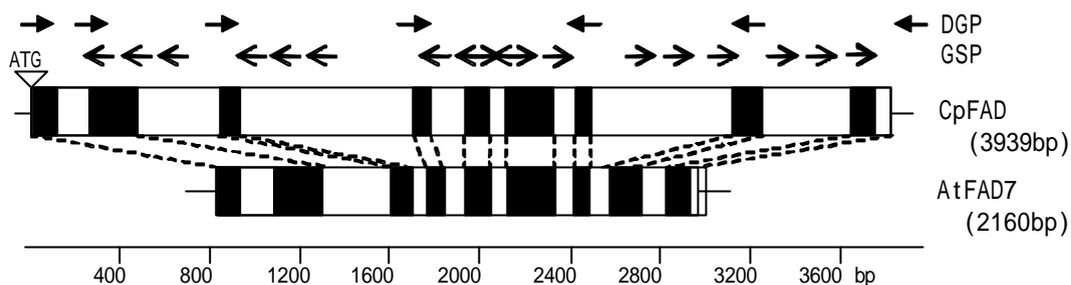


図1 シロイヌナズナAtFAD7とシクラメンCpFAD遺伝子のintron ()およびexon()の配置比較

- 注) 1. →→ : シークエンスに用いたプライマーの位置
 2. □ : 相同性の低い領域
 3. DGP: degenerate primer、GSP: Gene specific primer

		CpFADに 対する相同性	
CpFAD	227	TLPFPLLAYPFIYLVGRSPGKKGSHYDPS	
AtFAD7	236	TLPFPLLAYPFYLVSRSPGKKGSHFDPN	77 %
LeFAD	229	TLPFPLLAYPFYLVGRSPGKKGSHFDPN	75
StFAD	225	TLPFPLLAYPFYLVGRSPGKKGSHFDPS	75
NtFAD	235	TLPLVRLAYPFYLVARSFGKKGSHYFD	70

図2 シクラメンCpFADと他植物FADのアミノ酸配列の相同性

- 注) 1. 最上段 : シクラメンCpFADのN末端より227 ~ 254を示す
 2. 反転部 : 一致したアミノ酸配列を示す
 3. At: Arabidopsis thaliana(シロイヌナズナ)
 Le: Lycopersicon esculentum(トマト)
 St: Solanum tuberosum(パレイショ)
 Nt: Nicotiana tabacum(タバコ)

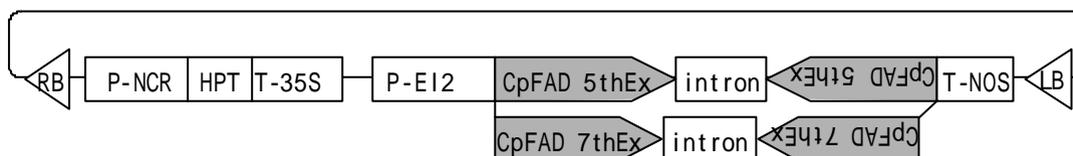


図3 シクラメンFAD遺伝子のノックダウンTiバイナリーベクター構造

- 注) RB: Right border, P-NCR: SoyCMV noncoding region promoter
 HPT: Hygromycin phosphotransferase, T-35S: CaMV35S terminator
 P-E12 : CaMV35S based hyper promoter, Ex: Exon,
 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16年度 (平成13 ~ 16年)

研究担当者 : 平島敬太、池上秀利、甲斐浩臣