

研究課題名 組み換え植物を用いた動物型糖脂質の生産
所属研究機関名 独立行政法人 産業技術総合研究所
研究者氏名 田坂恭嗣

・研究計画の概要

研究の趣旨・目的

スフィンゴ脂質はインフルエンザ等の各種ウイルスや細菌毒素のレセプターとなることから、高齢化社会における健康的な生活水準向上の面から、これらの感染症に対して抗生物質や合成医薬品原体に頼らない新規治療薬として早期の実用化が期待されているところである。例えばセラミドトリヘキソシドはペロ毒素(大腸菌 O-157 が生産する毒素)や志賀毒素(赤痢菌が生産)が細胞表面に結合するためのレセプターであること、ラクトシルセラミドは淋菌やプロピオン酸菌(皮膚炎の原因菌)が細胞に感染する際のレセプターであることが知られている。しかし、現在こうした動物固有の糖脂質は動物組織からの抽出や化学合成法で小規模生産されているに過ぎない。化学合成は困難であるうえ、生体微量成分であるため動物からの大量精製には膨大な量の動物組織(含有量が多い脳)を必要とし、研究上、実用上の大きな障害となっている。特に生体材料使用に関しては、BSE(狂牛病)等の動物感染症病原体による汚染の危険性や動物愛護の観点からも社会的状況は厳しい。

本研究は、植物遺伝子組み換え技術を利用して、本来植物では生産されない動物の有用なスフィンゴ脂質を生合成する植物体を新規に創製しようとする試みである。動物等由来の糖転移酵素遺伝子を植物に導入し、糖脂質代謝系を改変した植物を作出する系の確立を目指している。その1例としてセラミドトリヘキソシドを生合成する植物を作出することを目標としている。

遺伝子組み換え植物を用いた有用物質生産、および動物由来遺伝子の植物発現に関して報告はあるが、いずれも遺伝子がコードするタンパク質をそのまま生産させる場合が多く、植物に代謝系遺伝子を導入させて新規物質を生産させる試みは、高ビタミンライスを含め、あまり多くない。本研究は、植物に動物の一連の代謝系の遺伝子を導入し、機能させることを目的とした研究で、その生産物質も動物型糖脂質を目標としており、独創性のある研究である。

研究計画の概要

動物のほぼ全てのスフィンゴ脂質の共通の前駆体は、ラクトシルセラミド(Gal 1-4Glc 1-Cer)であるが、植物はこれを合成しない。しかし、その前駆体であるグルコシルセラミド(Glc 1-Cer)は広く植物に存在することが知られている。

そこでまず、動物の糖転移酵素 1,4 ガラクトシルトランスフェラーゼ(14GT)遺伝子を単離し、構造解析後に植物発現ベクターを構築し植物に導入し発現させることによりラクトシルセラミドを合成する組み換え植物を作出する。次にラクトシルセラミドを十分に合成する植物体に更に、動物の 1,4 ガラクトシルトランスフェラーゼ(14GT)遺伝子を導入してペロ毒素レセプターとしての機能が期待されるセラミドトリヘキソシド(Gal 1-4Gal 1-4Glc 1-Cer)を生合成する組換え植物の作出を試みる。

研究計画の詳細報告

(単位:百万円)

研究項目	所要経費				
	13年度	14年度	15年度	16年度	合計
1. ラクトシルセラミド合成タバコ 作出の研究	15.9	14.5			30.4
(1) 1,4 ガラクトシルトランス フェラーゼ遺伝子の単離	8.5				8.5
(2) 1,4 ガラクトシルトランスフ ェラーゼ遺伝子を用いた植 物発現ベクターの構築	3.5				3.5
(3) 1,4 ガラクトシルトランスフ ェラーゼ遺伝子によるタバコ の形質転換	3.9				3.9
(4)形質転換タバコの育成		7.5			7.5
(5)形質転換タバコの脂質の解 析		7.0			7.0
2. セラミドトリヘキソシド合成タバ コ作出の研究		5	15.9		20.9
(1) 1,4 ガラクトシルトランスフ ェラーゼ遺伝子の単離		3.0			3.0
(2) 1,4 ガラクトシルトランスフ ェラーゼ遺伝子を用いた植 物発現ベクターの構築		2.0			2.0
(3) 1,4 ガラクトシルトランスフ ェラーゼ遺伝子によるタバコ の形質転換			7.9		7.9
(4) 形質転換タバコの育成			8.0		8.0
(5)形質転換タバコの脂質の解 析					
所要経費(合計) (間接経費を含む)	15.9	19.5	15.9		51.3

・研究成果の概要

研究成果の概要

タバコの脂質分析の系を構築し、スフィンゴ脂質の解析を行えるようにした。タバコ葉の脂質解析を行ったところ、グルコシルセラミドの割合は総脂質の約 2%であることが分かった。

ラクトシルセラミドを生産する植物を作出するために、ヒト由来の 14GT 遺伝子を単離し、遺伝子組換えタバコを作出した。42 系統の組み換え体に 14GT 遺伝子全長が挿入されていることが確認出来た。セラミドトリヘキソシドを生産する植物を作出するために、ヒト由来の 14GT 遺伝子を単離した。これを Ti プラスミド pBE2113 の GUS カセットと差し替え、植物発現ベクター pBE/ 14GT を構築した。現在は遺伝子組み換えタバコの葉の脂質解析を進めている。

波及効果、発展方向、改善点等

本研究で作出しようとしている組み換え植物は、化学合成等が困難かつ高コストで、しかも生体から従来動物から少量しか得られない動物固有のスフィンゴ糖脂質を大量に、安価に生産するシステムを提供するもので、従来の微生物培養や培養細胞系による物質生産系に代表されるエネルギー消費型の生産系ではなく、太陽光エネルギーを利用し、光合成により大気中の二酸化炭素を固定する、環境に優しい 21 世紀型の物質生産系である。さらに、創製される植物体は健康向上に寄与する新規の提供する物質生産用の特化作物となるため、新たな農作物需要を引き起こすものであり、以上の点から、本研究開発の引き起こす波及効果は非常に大きいものである。また、農業のみならず、植物からの脂質精製および加工・利用といった産業への波及効果も高い。

現在研究は 4 年計画のうち 2 年を経過した段階であり、予定通り 14GT 遺伝子を導入した形質転換タバコを作出し、脂質解析を進めている。

また、14GT に対する市販の抗体が無いため酵素タンパク質を発現した組み換え植物個体を効率的に選抜することが出来ない。そこで当初計画に加えて、本酵素を大腸菌発現させて抗体を作成する研究も行っている。

. 研究成果発表等の状況

(1) 研究発表件数

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合計
国内	0件	0件	0件	0件
国際	0件	0件	0件	0件
合計	0件	0件	0件	0件

(2) 特許等出願件数

合計 0件 (うち国内0件、国外0件)

(3) 受賞等

0件 (うち国内0件、国外0件)

(4) 主な原著論文による発表の内訳

なし

(5) 主要雑誌への研究成果発表

Journal	Impact Factor
なし	

組み換え植物を用いた動物型糖脂質の生産

