

# 設計通りに遺伝子交換

## Gene exchange by design

Stanton B. Gelvin

細菌から植物への遺伝子導入が可能なのは、アグロバクテリウム属の細菌に限られると考えられてきた。ところが、アグロバクテリウム以外の細菌属にも界を越えた遺伝的交換が可能な種が存在するようだ。

Nature Vol.433(583-584)/10 February 2005

生き物はみな、親から子へ遺伝情報を伝えることができなければならない。この「垂直方向」の遺伝子の受け渡しがなければ、種は死に絶えるほかない。だが、生物が他の生物へと遺伝子を受け渡す仕組みはこれだけではない。「水平方向」の遺伝子導入が進化の主要な要因の1つだとみる考え方はだいぶ以前からあり、過去に遺伝子の水平移動が起こったと思われる例は多数ある。現在進行形のものとしては、細菌の接合（細菌どうしが直に接触して一方から他方へ遺伝子を受け渡すこと）が最もよく引き合いに出される。たとえば細菌から植物へというように、系統分類的に異なる界の生物種どうしでの遺伝物質の水平移動も起こりうるが、これまではアグロバクテリウム属の細菌についてしか報告されたものがなかった。今回 Broothaerts たちは、この属以外にも界を越えた「セックス」ができる細菌種が存在することを明らかにした<sup>1</sup>（原著論文は *Nature* 2/10 号を参照のこと）。

*Agrobacterium tumefaciens* は病原細菌で、根頭癌腫病という広範な植物種がかかる腫瘍性疾患（図1）を引き起こす<sup>2</sup>。*A. tumefaciens* は近縁な *A. rhizogenes* や *A. vitis*、*A. rubi* とともに、大きな染色体外 DNA 要素（癌腫誘導プラスミド、略して Ti プラスミド）の一部を寄主植物に導入して癌腫を引き起こす。この導入された DNA (T-DNA) はいったん植物細胞の内部に入ると核を目指し、そこで最終的に宿主ゲノムに入り込む。T-DNA にコードされる癌腫遺伝子が発現すると、ホルモンの過剰生産がホルモン感受性の異常亢進が起こって細胞増殖に対する制



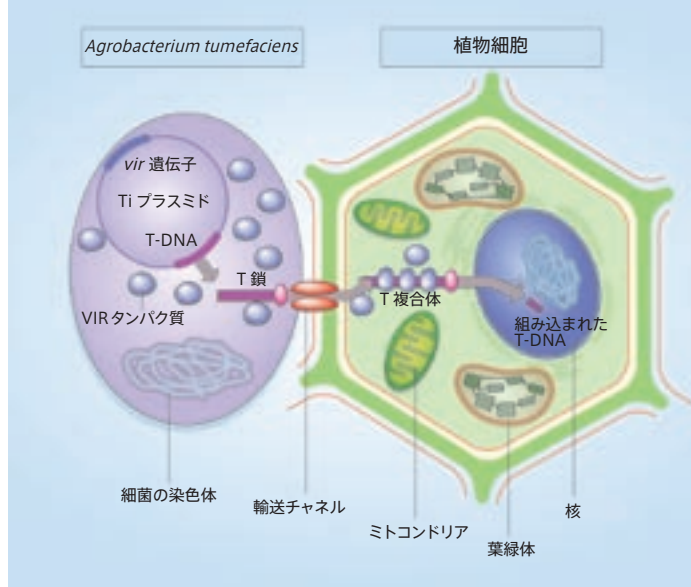
図1 ニレの木にできた根頭癌腫病。大部分の根頭癌腫は地面か地下の部分にできるが、この写真のように地上部の癌腫もできる。(写真提供: Jer-Ming Hu、国立台湾大学)

御がきかなくなり、癌腫ができる<sup>3</sup>。

アグロバクテリウムに備わるこのような植物への DNA 導入能は、遺伝子工学に携わる研究者たちに活用されてきた。細菌の T-DNA から癌腫遺伝子を削除して、導入したい遺伝子に置き換えられるからだ（図2）。こうした「導入遺伝子」を入れ込むことができれば、除草剤や病原体に対する抵抗性、改造した成長特性や栄養摂取特性、あるいは薬剤や食べるワクチン（植物に抗原を発現させ、それを食べたヒトや動物に病原体に対する免疫をもたせる）を作る能力といった、新たな特徴を備えた植物を作り出せる。アグロバクテリウムは実験室条件下で菌類や動物の細胞に遺伝的形質転換を起こすこともできる<sup>4,6</sup>。

アグロバクテリウムを使った遺伝的形質転換は植物の基礎研究に欠かせないものとなっており、農業バイオ技術産業においても遺伝子導入植物を作るための基本手段となっている。だが少なくとも商業目的については、アグロバクテリウムを使った植物の形質転換技術には特許の問題がややこしくからんでくる。そのため（そして科学的関心というもつと根本的な理由からも）、他の細菌種がアグロバクテリウムと同じように「植物遺伝子のエンジニア」となれるかどうかを見極めたいとなって然るべきだろう。他の細菌種を遺伝子操作して Ti プラスミドを運ぶようにすると植物に癌腫を起こせることは、すでにいくつかの論文で示されている<sup>7-9</sup>。しかし、これらの細菌から植物へ本当に DNA が導入されたことを分子レベルで実証した証拠はこれまでなかった。Broothaerts たちは今回、この証拠を示したわけである<sup>1</sup>。

この研究では、細菌の2つの科の代表種である *Rhizobium* 種の NGR234、*Sinorhizobium meliloti*、*Mesorhizobium loti* が使われた。Broothaerts たちはまず、これらの細菌に T-DNA 領域を欠く無毒化した Ti プラスミドを導入した。この Ti プラスミドには毒性遺伝子が含まれている。そのタンパク質産物は T-DNA に働きかけ、T-DNA を植物に導入するのに必要となる（図2）。次に



**図 2** アグロバクテリウムが植物を遺伝的に形質転換させる仕組み。アグロバクテリウムには腫瘍を引き起こすプラスミド (Ti プラスミド) があり、そこには毒性 (*vir*) 遺伝子と導入された DNA (T-DNA) 領域が含まれる。この T-DNA に望む遺伝子を挿入できる。傷ついた植物細胞はフェノール類の防御物質を産生し、この物質がアグロバクテリウムの *vir* 遺伝子を発現させる。この遺伝子から作られた毒性 (Vir) タンパク質が Ti プラスミドから T-DNA 領域を切り出し、「T鎖」を生じさせる。細菌が植物細胞に接着したあと、この T鎖と数種類の Vir タンパク質が、輸送チャネルを通じて植物内に運び込まれる。植物細胞内に入ると Vir タンパク質が T鎖と相互作用して T複合体を形成する。この T複合体は核を指し、T-DNA が植物ゲノムに入り込んで自分にコードされている遺伝子を発現させる。

彼らは、T-DNA 領域を含む第 2 のプラスミドを、アグロバクテリウム属でないこれらの細菌種と、無毒化したアグロバクテリウム菌株に導入した。この T-DNA には、抗生物質ハイグロマイシンに対する耐性遺伝子と、マーカー酵素である  $\beta$ -グルクロニダーゼを発現させる遺伝子を入れてある。菌株の混合によってデータ解釈を誤ることを防ぐため、アグロバクテリウムとそうでない細菌種には違う「分子タグ」を T-DNA につけておいた。

Broothaerts たちはこれらの細菌を、高等植物の主要 2 群の代表種にあたる何種類かの植物種に感染させた。使った植物種は、双子葉植物 (アグロバクテリウムによる形質転換を非常に受けやすい) のタバコとシロイヌナズナ、および単子葉植物 (アグロバクテリウムによる形質転換をあまり受けない) のコメである。 $\beta$ -グルクロニダーゼを発現しハイグロマイシンに耐性をもつ植物ができたことから、実験したすべての細菌種で形質転換に成功したことが示された。形質転換の成功は、DNA プロット解析と、アグロバクテリウム属以外の細菌種によって形質転換された植物から回収した T-DNA と植物 DNA の連結部分の塩基配列解析によって確認された。さらに、これらの植物の T-DNA と植物 DNA の連結部分は、アグロバクテリウムによる形質転換でできる連結部分と特徴が似通っていた。つまり、異なる細菌種に由来する T-DNA のプロセッシング、導入、組み込みがおそらく同一の機構で起こったのだろう。

Broothaerts たちの研究結果からすると、アグロバクテリウム属以外の細菌種でも、アグロバクテリウムに見られ

る遺伝的形質転換の機構をまったく同様に果たせるとみられる。シロイヌナズナの形質転換には、雌性生殖細胞 (生殖系列細胞) を標的とするフラワー・ディップ法を要した<sup>10</sup>。しかしタバコとコメは体組織 (それぞれ、葉とカルス細胞) を介して形質転換させており、これにはおそらく違う機構がからんでいる<sup>11</sup>。

今回さらにわかったのは、アグロバクテリウム属以外の細菌種を遺伝子操作すれば、数種の植物を遺伝的に形質転換させるようにできるものの、これらの形質転換効率はアグロバクテリウム法の 1% 未満から約 40% とかなり低く、その値は使用した種と形質転換評価法に左右されるということだ。ただし Broothaerts たちによれば、形質転換条件 (たとえば植え付けられた植物組織の年齢や型) を変えれば形質転換効率が上がる可能性はあるという。多くの植物種は元々アグロバクテリウム法に「不応性」で形質転換効率が低かったが、こうした操作によって効率は過去 20 年でかなり向上した。

Broothaerts たちの発見<sup>1</sup> は間違いなく、植物の基礎科学とバイオ技術に重大な意味をもって来る。いくつかの細菌種に植物への遺伝子導入能があるとわかったことで、こうした遺伝子の水平移動が植物の進化に関与した可能性が一段と濃厚になってきた。すでに知られているように、一部の植物種のゲノムには、*A. rhizogenes* が大昔に引き起こした形質転換の名残が含まれている<sup>12,13</sup>。なかには、アグロバクテリウム由来の導入遺伝子が現在、寄主植物の制御を受ける形で発現されている例もあり<sup>14</sup>、こうした遺伝子が植物の遺伝的構成の重要部分となっていたことがうかがわれる。同じようにして他の細菌に由来する導入遺伝子が植物に組み込まれた例も見つかるかもしれない。こうした遺伝子の受け渡しの仕組みや、こうした出来事が起こりうる生物の範囲が解明されていけば、遺伝子の水平移動が高等生物の進化に大事だということが理解されていくに違いない。 ■

パーデュー大学 (米)、Stanton B. Gelvin

1. Broothaerts, W. *et al. Nature* **433**, 629–633 (2005).
2. DeCleene, M. & DeLey, J. *Bot. Rev.* **42**, 389–466 (1976).
3. Gelvin, S. B. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **67**, 16–37 (2003).
4. Bundock, P., den Dulk-Ras, A., Beijersbergen, A. & Hooykaas, P. J. *J. EMBO J.* **14**, 3206–3214 (1995).
5. de Groot, M. J. A., Bundock, P., Hooykaas, P. J. J. & Beijersbergen, A. G. M. *Nature Biotechnol.* **16**, 839–842 (1998).
6. Kunik, T. *et al. Proc. Natl Acad. Sci. USA* **98**, 1871–1876 (2001).
7. Klein, D. T. & Klein, R. M. *J. Bacteriol.* **66**, 220–228 (1953).
8. Hooykaas, P. J. J., Klapwijk, P. M., Nuti, M. P., Schilperoord, R. A. & Rorsch, A. *J. Gen. Microbiol.* **98**, 477–484 (1977).
9. van Veen, R. J. M. *et al. Mol. Plant-Microbe Interact.* **1**, 231–234 (1988).
10. Desfeux, C., Clough, S. J. & Bent, A. F. *Plant Physiol. Biochem.* **123**, 895–904 (2000).
11. Mysore, K. S., Kumar, C. T. R. & Gelvin, S. B. *Plant J.* **21**, 9–16 (2000).
12. Furner, I. J. *et al. Nature* **319**, 422–427 (1986).
13. Suzuki, K., Yamashita, I. & Tannaka, N. *Plant J.* **32**, 775–787 (2002).
14. Meyer, A. D., Ichikawa, T. & Meins, F. *Mol. Gen. Genet.* **249**, 265–273 (1995).