

31-0644 W2-1

組換え薬用植物の作出法に関する研究—組換えオウレンの作出と超低温保存

○吉松 嘉代¹, 土反 伸和², 河野 徳昭¹, 木内 文之¹, 佐藤 文彦³, 矢崎 一史² (1 国立衛研筑波,² 京大生存研,³ 京大院生命)

【目的】単離・同定された遺伝子の植物体内での機能や生理学的役割を明らかにし、有効かつ高度に利用するためには、その遺伝子を再び植物体に導入した組換え体について解析することが必要不可欠である。しかしながら、薬用植物で組換え体作出法が確立している植物種は限られている。そこで、本研究では、有効な組換え体作出法が報告されていないセリバオウレンについて、効率的な組換え体作出法及び組換え体の超低温保存について検討したので報告する。

【方法・結果】常法により殺菌後、約 5 mm 長に調製した圃場栽培株の葉柄を供試材料とし、モデル遺伝子をサブクローニングしたバイナリーベクターを保有する *Rhizobium* 菌を、以下の 3 種の方法で感染させた。1. HF 固形培地で切片を 9 日間前培養後、共存培養；2. NAA 1 mg/l と Kin 2 mg/l を添加した (NK) 固形培地で切片を 16 日間前培養後、共存培養；3. 25°C 暗所 YEB 液体培地で一晚培養した菌液中に切片を 60 分間浸漬。感染直後の除菌は Claforan 500 mg/l 添加 NK 培地を用いた。モデル遺伝子として *gus* 遺伝子を用いた場合、形質転換率 (形質転換体が得られた切片数/全切片数×100) は、1: 7.1%、2: 33.3%、3: 0%であり、共存培養前に NK 培地で前培養すると形質転換率が向上することが判明した。前報にて報告した *Cjmdr 1* 形質転換体^{1, 2)} を材料に、非形質転換不定胚で確立した条件³⁾ を一部改変し超低温保存を行った。その結果、形質転換不定胚から再生が認められ、再生率は 40%であった。現在超低温保存後の再生体の形質を調査中である。

1) 吉松ら, 第 21 回日本植物分子生物学会大会講演要旨集 p. 60 (2003)

2) 土反ら, 第 45 回日本植物生理学会年会講演要旨集 p. 204 (2003)

3) 吉松ら, 日本薬学会第 117 回年会講演要旨集 2 p. 134 (1997)