

# 26PA-am006

## ホソバルピナスにおける毛状根培養系の確立

○及川 栞里<sup>1</sup>, 加賀 由莉奈<sup>1</sup>, 浅野 孝<sup>1</sup>, 山崎 真巳<sup>2</sup>, 齊藤 和季<sup>2</sup>, 藤井 勲<sup>1</sup> (<sup>1</sup>岩手医科大学, <sup>2</sup>千葉大院薬)

【目的】広範な薬理活性を有するキノリチジンアルカロイドは、ルピナス属植物や生薬「苦参」の基原植物であるクララで生産されることが知られているが、どのような生合成機構に基づいてアルカロイドが生産されるかは未だに不明な点が多い。今回、キノリチジンアルカロイドの生合成基盤の1つとしてホソバルピナス (*Lupinus angustifolius*) に注目し、超音波を利用した SAAT (Sonication-Assisted *Agrobacterium*-mediated Transformation) 法による毛状根の誘導方法の検討を行ったので報告する。

【方法・結果】ホソバルピナスの種子を、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いて殺菌後、1/2MS 固形培地 (1%ショ糖) に置床し、20℃、16 時間明期、8 時間暗期で 4 日間培養することにより、無菌植物体を得た。得られたホソバルピナスの無菌植物体から幼根のみを切り出し、*Agrobacterium rhizogenes* 15834 株の懸濁液 (1/2MS、3%ショ糖、0.02% SILWET L-77、200 μM アセトシリゴン、2.4 μM NAA) に浸け、30 秒間超音波処理を行った。そして、*A. rhizogenes* 懸濁液を予め湿らせたろ紙の上に切片を置いて真空処理を行った後、20℃、暗所下で 3 日間共存培養を行うことにより感染を成立させた。次に、共存培養を行った切片を、メロペネム (50 mg/L) を含む除菌用固形培地に移し、25℃、暗所下で約 10 週間培養して除菌を行った。その結果、ホソバルピナスの幼根から、継代可能な不定根を誘導できた。この継代可能なホソバルピナス不定根からゲノム DNA を抽出し、PCR 法を用いて *rol* 遺伝子の存在を検討した結果、得られた不定根が毛状根であることを確認出来た。