

27PA-am156S

ラッセルルピナスにおける毛状根培養系の確立

○佐々木 万里¹, 浅野 孝¹, 加賀 由莉奈¹, 山崎 真巳², 斉藤 和季², 藤井 勲¹ (¹岩手医大薬, ²千葉大院薬)

【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研究基盤の1つとしてラッセルルピナスに注目し、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】ラッセルルピナスの種子を、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1週間培養した後、MS 固形培地 (3%ショ糖) に継代し、さらに1週間培養して無菌植物体を得た。得られた無菌植物体から根、茎、葉を切り出し、*A. 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6週間培養して除菌を行った。その結果、ラッセルルピナスの葉及び茎から、継代可能な不定根を効率よく誘導できた。この継代可能な不定根からゲノム 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した。