

平成25年度共同研究の概要（成果報告書抜粋）

研究種目： 一般研究

研究代表者： 寺地 徹（京都産業大学総合生命科学部・教授）

研究分担者： 山岸 博（京都産業大学総合生命科学部・教授）、辻村 真衣（京都産業大学総合生命科学部・特定研究員）

研究題目（和文）：

葉緑体の形質転換技術を用いたストレス耐性コムギの作出

研究概要（和文）：

1. 材料の調製

パーティクルボンバードメント法により葉緑体へ遺伝子を導入するためには、再分化能の高い外植片が必要である。コムギの場合は未熟胚由来のカルスを経験した遺伝子導入のための外植片として用いている。本研究では、季節に依らない植物材料の調製を目指し、培養に適した品種である‘アカダルマ’と‘Bobwhite’を、乾燥地研究センターのグロースチャンバーで栽培した。24年度の結果では、前者と後者のカルス化率はそれぞれ73%、39%であった。そこで、25年度は栽培する品種を‘アカダルマ’に絞り、11,353個の単離した未熟胚から8,097個のカルスを得た。

2. 形質転換カルの PCR 解析

前年度に遺伝子導入を試みたカルのうち、緑色を保持していたカルス16個からDNAを回収し、PCRを行った。導入ベクター内に位置するプライマーペアを使ったPCRでは、形質転換体のみで特異的な断片が増幅するものの、葉緑体ゲノムと導入遺伝子のプライマーペアによるPCRでは、形質転換体から断片は増幅しなかった。これらの結果から、今回の実験で、導入ベクターが核ゲノムに組み込まれた可能性はあるものの、目的とする遺伝子を葉緑体ゲノムへ導入することはできなかつたと結論した。

3. 緑色スポット誘導のためのホルモン条件の検討

今回用いたカルスには緑色のスポットを形成しているものが少なく、葉緑体が未発達であることが観察された。そこで、カルス化後の培養に用いる培地のホルモン条件を検討した。オーキシン（2,4-D、NAA）とサイトカイニン（BAP）の濃度を変えた合計7種類の培地を試したところ、培養後14日目のアカダルマでは、2,4-Dを2mg/L含む培地では、27%のカルスしか緑色スポットを生じなかつたのに対し、NAAを0.2mg/L、BAPを2mg/L含み、2,4-Dを全く含まない培地では、70%以上のカルスが緑色スポットを生じた。25年度の実験には、外植片としてこの条件で培養したカルスを用いている。現在までに合計72プレートにボンバードメントを行い、カルスを選抜培地で培養中である。