

アグロバクテリウム法による「コシヒカリ」の効率的形質転換							
[要約] 「コシヒカリ」から増殖能の高い胚盤由来カルスを誘導し、アグロバクテリウム法で効率的に形質転換体を作成する方法を確立した。用いたベクターはpBI101由来のpIG121Hmである。							
三重県農業技術センター・資源開発部・稲育種担当					連絡先	05984-2-6363	
部会名	水田・畑作物	専門	バイオテック	対象	稲類	分類	研究

[背景・ねらい]

現在はイネの形質転換においても、簡便で、効率の高いアグロバクテリウム法が主流となってきている。ところが、一般的に用いられているpBI101由来のベクターによる形質転換での材料は、培養しやすい品種に限られていた。そこで、重要品種であるコシヒカリで、良食味をはじめとする優良形質を変えずに希望形質を導入することを目的として、効率的な形質転換法の確立を図った。

[成果の内容・特徴]

1. コシヒカリの形質転換では、おおむね 3週間までに誘導された、増殖能の高い胚盤由来カルスが材料として適していた (図1)。
2. 培養時の細胞増殖の遅いコシヒカリで、1. で示したカルスを誘導するためには、2mg/ℓ 2,4-Dを含む修正N6培地 (アンモニア態窒素を除き、硝酸態窒素1/4 量) にグルタミン (1g/ℓ) 及びアスパラギン酸 (1g/ℓ) の添加が効果的であった (図2)。イネの細胞増殖に効果的とされているプロリン (3g/ℓ)、カザミノ酸 (0.3g/ℓ) の添加では、増殖しにくいカルスが誘導される傾向にあった。
3. バイナリベクターにはpBI101に由来し、カナマイシン遺伝子 (NPT II)、イントロンGUS 遺伝子 (Intron-GUS)、ハイグロマイシン耐性遺伝子 (HPT) を含むpIG121Hmを、アグロバクテリウムの系統にはEHA101を用いた。
4. 3日間共存培養した後、ハイグロマイシンを含む培地で 2~3回選抜したカルスから植物体を再分化させた。その90%の個体で葉、根にGUS活性が認められた。サザンハイブリダイゼーションの結果、1~8コピーのGUS およびHPT の導入が認められ、コシヒカリの形質転換体であることを確認した (図3)。

[成果の活用面・留意点]

1. 同様の形質転換系で、コシヒカリ以外の三重県の主要品種にも利用でき、粳品種で15~25%の形質転換効率であった (図4)。
2. 病害抵抗性に関連するものなど農業上有用遺伝子を導入し、主要品種の改良に利用する。

[具体的データ]

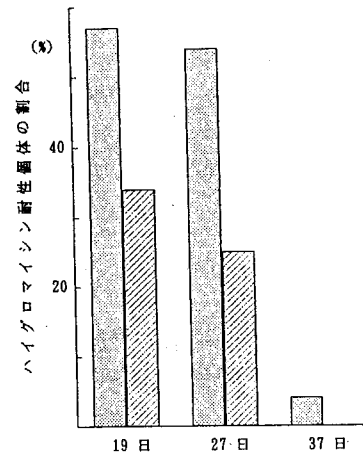


図1 コシヒカリのカルス誘導後日数とハイグロマイシン耐性個体の割合

■ 耐性カルス □ 耐性再分化植物

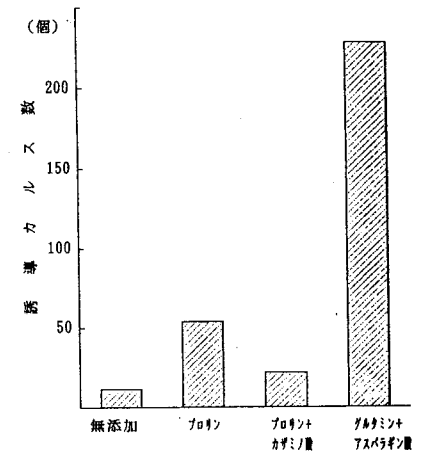


図2 培地に添加するアミノ酸と誘導されたコシヒカリの胚盤由来カルス数 (誘導 3週間後、54種子/区)



図3 形質転換コシヒカリのサザン分析

C: 非形質転換体 1~7: 形質転換体

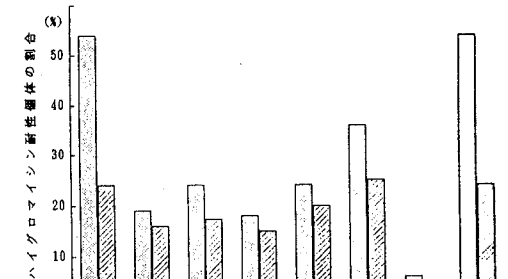


図4 イネ品種の形質転換効率

□ 耐性カルス □ 耐性再分化植物

[その他]

研究課題名: ニューバイオテクノロジーによる水稻新品種の育成

予算区分: 県単

研究期間: 平成 9年度 (平成 8年~13年)

研究担当者: 橋爪不二夫、宇垣正志 (生物研)

発表論文等: アグロバクテリウム法による「コシヒカリ」の効率的形質転換、第 5回育種学会中部地区談話会講演要旨、1997。