

アグロバクテリウムによる MG-20 の形質転換法

岡本暁¹ 加藤智朗² 武田直也³ 林誠³

1 東京大学大学院 理学系研究科

(メールアドレス : okamoto@biol.s.u-tokyo.ac.jp)

2 農業生物資源研究所 植物・微生物間相互作用研究ユニット

3 Department of Biology 1, Genetics University of Munich

MG-20 で形質転換を行う場合、ゲノムの倍加、地上部の帯化など予期せぬ変異が生じることが当研究室（川口研）でも問題となっている。その解決策の1つとして、カルス培養の期間をなるべく短くすることが挙げられる。以下の方法は阪大で MG-20 を用いて形質転換を行った経験をまとめたものである。この方法でゲノムの倍加が高頻度で生じるかどうかは確認していないが、目立った培養変異は認められていない。

より最適な培養条件（ホルモン濃度や培養期間）など、検討の余地がいくつかあると思われるが、MG-20 での形質転換を成功させるための一助となればと思っている。

アグロバクテリウム：阪大では LBA4404 株を用いていた。なお、AGL1 株を用いても今のところ問題は無い。

培地組成：各ステップともに河内研のミヤコグサ形質転換マニュアルの MG-20 バージョンのものである（BAP 終濃度：0.2 μ g/ml）。

培養条件：明期 16 時間（23°C）／暗期 8 時間（20°C）

Co-cultivation

↓ 6 days

Callus induction

↓ 3-5 weeks

Shoot induction

↓ 1-3 weeks

Shoot elongation

※

↓ 以下の期間は河内研プロトコールに準じる。

Root induction

↓

Root elongation

↓

pot

※ この期間をなるべく短くすることがポイントと思われる。例えば、Callus induction 培地 3 週目でカルス化が見られるものがあれば、さらに成長するのを待つのではなく、Shoot induction 培地に移す。さらに、Shoot induction 培地に移して 3 週程度で Shoot elongation 培地に移す。おそらくこの時点では shoot 状のものは形成されていない。なお、Callus induction 培地に移してから 5 週経ってもカルスが出てこないものは廃棄することになっていた。

また、この他に Callus induction 培地 5 週、Shoot induction 培地 1 (~3) 週の後、Shoot elongation 培地に移す方法も採られている。

再生個体のうち、8 割程度の個体に遺伝子が導入されていることが確認されている。

文献

Kato, T et al. Expression of a major house dust mite allergen gene from *Dermatophagoides farinae* in *Lotus japonicus* accession Miyakojima MG-20. *J Biosci Bioeng.* 2005 Feb;99(2):165-8.