

# 野末雅之・斉藤英毅・野川優洋・小島峯雄

目的別テーマ：バイオテクノロジーを活用した新規繊維生物の作出

17年度研究テーマ

15-2-12：繊維作物の分子育種のための基盤技術の開発

## ABSTRACT

We have already developed a simple and efficient *in planta* transformation method for mulberry and kenaf. In this year, we tried to develop an *in planta* transformation method for cotton. The reported *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of cotton tissue is applicable only to Coker variety that is not a commercially important variety. The commercially important varieties cannot be transformed by the reported method due to inability to be regenerated in tissue culture system. Our *in planta* transformation method does not require tissue culture for transformation and it would overcome the disadvantage of cotton transformation based on tissue culture. Meristem tissues of either apical or axillary buds of cotton were inoculated with *A. tumefaciens*. The inoculated plants were allowed to grow in pots. PCR analysis detected one transformant.

## 研究目的

遺伝子組換え技術を使用する分子育種は従来の育種法では克服できない種の壁を越えた有用遺伝子の導入が可能になる。我々は植物の分裂組織を直接 *A. tumefaciens* を用いて形質転換する *in planta* 形質転換法を開発している。*In planta* 形質転換法は組織培養を必要とせず、組織培養に伴う植物形質転換法の問題点を解決することができる。この *in planta* 形質転換法を各種繊維植物への遺伝子の導入に応用し、繊維作物の品質と収量の向上を目指す分子育種に道を開くことを目的とした。

ワタは全世界で年間 2000 万トン生産される重要な繊維作物である。ワタの形質転換法の問題点は組織培養で植物体へ再生できる品種が Coker に限られており、実用品種へは直接遺伝子導入できないことである。実用品種を直接形質転換できるワタの *in planta* 形質転換法の開発を目的とした。

## 一年間の研究内容と成果

### 実験方法

アジア綿の農林 1 号と赤木黒種を被形質転換品種として使用した。*A. tumefaciens* の接種の標的組織として茎頂と腋芽を使用した。茎頂に接種する場合は子葉が展開した幼植物の茎頂付近を針で傷を付け *A. tumefaciens* を接種した。腋芽の場合は、本葉が 5 枚程度展開するまで生育させ、茎頂部分を切断し、主茎以外の枝を切り落とし、腋芽が存在する主茎と葉柄の接合部分を針で傷付け、*A. tumefaciens* を接種した。接種後のワタは実験室内で栽培した。形質転換の確認は植物の上部の葉から DNA を抽出し PCR 法により行った。

### 実験結果

*A. tumefaciens* を接種したワタの 1 本でクラウンゴールが観察された。実験に使用した *A. tumefaciens* はトランスポゾン挿入により非病原性になった株であるので接種した菌の一部でトランスポゾンが再転移して病原性となった菌が混在したことがその原因として考えられた。この結果は *in planta* 法により、ワタの細胞に T-DNA が導入されたことを示している。ワタの形質転換の成否を PCR 法で確認したところ、54 個体中 1 個体から形質転換を示すバンドが検出された。形質転換頻度は低いが、*in planta* 法でワタを形質転換することができた。

## 展望

形質転換したワタを栽培し実験室内で種子 ( $T_1$ ) を得ることができたので、 $T_1$  植物を用いて形質転換の確認を行うと共に、本形質転換法の形質転換頻度の向上を進める。また、ワタ生産の主要な種である陸地綿の *in planta* 法での形質転換を試みる。これらの研究を通してワタの *in planta* 形質転換法が確立すれば、1 世代で実用品種に外来遺伝子を導入した新品種を作成できるようになるため、ワタの分子育種を劇的に効率化することが可能になると予想される。