
[成果情報名] 遺伝子組換えによる形質転換シクラメンの作出法

[要約] シクラメン実生の黄化葉柄を、100 μ M アセトシリンゴン添加のMS培地（1 mg/l TDZ、0.1 mg/l 2,4-D、30 g/l ショ糖、2 g/l ゲルライト、pH 5.8）上で *Agrobacterium tumefaciens* EHA105株と20℃の暗黒条件で5日間共存培養し、10 mg/lのメロペネムとハイグロマイシン添加の同じMS培地で8週間選抜することで形質転換体を獲得できる。

[キーワード] シクラメン、脂肪酸不飽和化酵素（FAD）遺伝子、形質転換体

[担当部署] バイオテクノロジー部・遺伝子操作チーム

[連絡先] 092-924-2970

[対象作物] 花き・花木

[専門項目] バイテク

[成果分類] 研究手法

[背景・ねらい]

シクラメンに内在する脂肪酸不飽和化酵素（FAD）遺伝子（平成16年度農業関係試験研究の成果）の働きを制御し、耐暑性などの環境ストレス耐性や病害抵抗性を持った形質転換シクラメンを作出するために、*Agrobacterium tumefaciens*を利用した形質転換体作出法を確立する。

[成果の内容・特徴]

1. シクラメン実生の黄化葉柄を1 mg/l TDZ、0.1 mg/l 2,4-D、30 g/l ショ糖、2 g/l ゲルライトを含むMS培地（再生培地）で、20℃の暗黒条件下で培養をすると、約4週間でカルスを経由して、不定芽が形成される（図1）。
2. 100 μ M アセトシリンゴン添加の再生培地上で黄化葉柄と *A. tumefaciens* EHA105株を20℃の暗黒条件で5日間共存培養し、10 mg/l メロペネムと10 mg/l ハイグロマイシン添加の再生培地で8週間選抜することで、形質転換体を得られる（図2）。
3. 「ピクトリア」の2倍体と4倍体及び「K523P」の合計11,500切片に遺伝子導入を行った結果、PCR陽性の形質転換体を158個体獲得できた（表1）。

[成果の活用面・留意点]

1. 遺伝子組換えによる形質転換シクラメンの作出に活用できる。
2. 作出した形質転換体の特性と環境に対する安全性は、閉鎖温室、特定網室、隔離圃場で確認する必要がある。

[具体的データ]

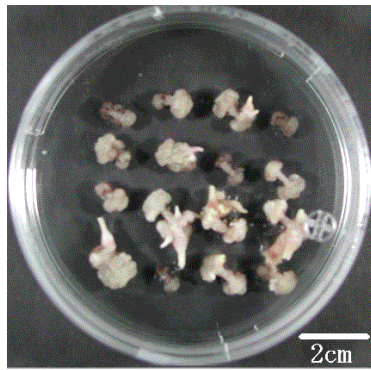


図1 シクラメンの不定芽形成

注) 培養期間は4週間

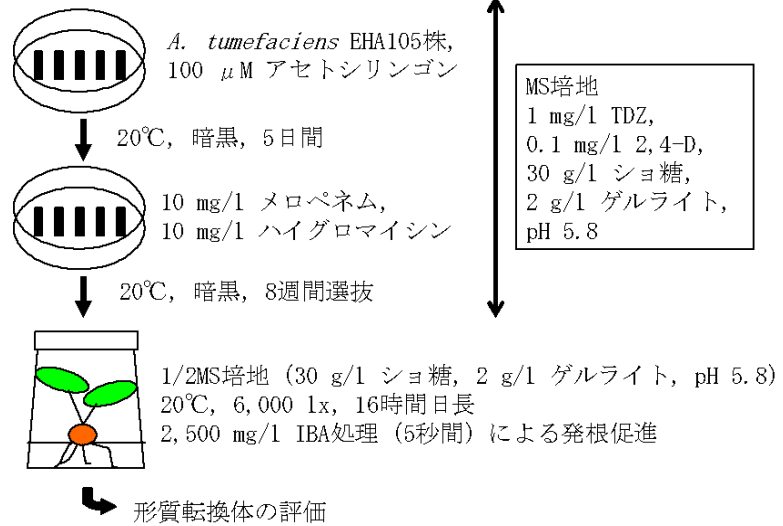


図2 シクラメンの遺伝子導入技術

表1 形質転換シクラメンの作出結果

品種・系統	切片数	導入遺伝子	カルス数	シュート数	PCR陽性数
ビクトリア(4倍体)	1,200	<i>AtFAD7AS</i>	27	7	7
ビクトリア(4倍体)	1,200	<i>NtFAD3AS</i>	25	5	5
K523P	1,900	<i>AtFAD7AS</i>	95	20	20
K523P	800	<i>NtFAD3AS</i>	8	8	8
ビクトリア(2倍体)	2,000	<i>CpFAD 7th exon</i>	231	130	99
ビクトリア(4倍体)	2,000	<i>CpFAD 5th exon</i>	66	21	9
ビクトリア(4倍体)	2,000	<i>CpFAD 7th exon</i>	54	25	12
合計	11,500		504	214	158

注) *AtFAD7AS* : シロイヌナズナ由来*FAD7*アンチセンス

NtFAD3AS : タバコ由来*FAD3*アンチセンス

CpFAD 7th exon : シクラメン「ビクトリア」由来*FAD7*第7エクソンRNAi

CpFAD 5th exon : シクラメン「ビクトリア」由来*FAD7*第5エクソンRNAi

[その他]

研究課題名 : 遺伝子導入技術の確立と形質転換体の作出

予算区分 : 県単 (新世紀スーパー農産物開発事業)

研究期間 : 平成17年度 (平成13~17年)

研究担当者 : 甲斐浩臣、平島敬太、池上秀利、村上英子、S. M. Rahman、中原隆夫

発表論文等 : 甲斐ら (2005)、園芸学会雑誌74別2 : 625