



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Agrobacterium rhizogenes による Mentha piperita
及び M.aquatica の形質転換

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 井上, 文秀 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2648

氏名(本国籍)	井上文秀 (愛知県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第307号
学位授与年月日	平成15年9月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
研究指導を受けた大学	信州大学
学位論文題目	<i>Agrobacterium rhizogenes</i> による <i>Mentha piperita</i> 及び <i>M. aquatica</i> の形質転換
審査委員会	主査 信州大学 教授 南 峰 夫 副査 信州大学 助教授 田 淵 晃 副査 静岡大学 教授 衛 藤 英 男 副査 岐阜大学 教授 宮 川 修 一

論文の内容の要旨

ハッカ属植物のペパーミント(*Mentha piperita*)は、その精油が医薬品をはじめ多種多様な製品に利用されている。ミズハッカ(*M. aquatica*)は、ラベンダー様の芳香の精油を生産する。これらの精油の主成分はモノテルペンであり、*M. piperita*ではその主成分は menthone 及び menthol, *M. aquatica*では linalool 及び linalyl acetate である。ハッカ属植物について、精油合成系の基礎的研究だけでなく、育種面での研究例も多く、特に近年遺伝子工学的手法の発展とともに、特定の遺伝子を導入する方法として、*Agrobacterium*法がハッカ属植物にも用いられるようになった。しかし、これまで *A. tumefaciens*を用いた報告例はあるが、*A. rhizogenes*を用いた報告例はない。そこで本研究では、*A. rhizogenes*を用いたバイナリーベクター法により、*M. piperita* 及び *M. aquatica* の形質転換植物体の作出を試みた。特に、毛状根からのカルス化、シュートへの分化、および植物体馴化までの条件を検討した。さらに、形質転換体の精油分析を行った。

*M. piperita*について、*A. rhizogenes*を用いたバイナリーベクター法による形質転換系を以下のように確立した。毛状根のカルス化条件: B5培地(1 μ M NAA, 10 μ M 4-CPPU, 2.5% coconut powder, 30 g/l sucrose, 5 g/l gellan gum, pH 5.8), 26°C, 暗所。さらに選抜圧として 50 mg/l kanamycin。シュートの再生条件: 1/2 MS培地(1 μ M NAA, 10 μ M 4-CPPU, 10 g/l sucrose, 5 g/l gellan gum, pH 5.8), 26°C, 16時間明期(2500 lx)。 *M. aquatica*については、以下の通りに確立した。毛状根のカルス化条件: B5培地(1 μ M NAA, 10 μ M 4-CPPU, 10 g/l sucrose, 10 g/l gellan gum, pH 5.8), 26°C, 明所(2500 lx)。シュートの再生条件: B5培地(1 μ M NAA, 10 μ M 4-CPPU, 2.5% coconut powder, 10 g/l

rol遺伝子および GUS 遺伝子の存在を形質転換植物体において確認した。

さらに、形質転換再生植物体の精油分析を行った結果、親植物とは明らかに異なった精油組成のものが認められた。たとえば、*M. piperita* において得られた形質転換再生体の中では、精油の品質を左右する成分の一種である menthofuran 含量の減少したものを認めた。また、*M. aquatica* において得られた再生体の中では、普通の親植物では検出されない環状モノテルペンである menthone 及び menthol を含むものを認めた。

これらの結果より、本研究で試みた *A. rhizogenes* を用いるバイナリーベクター法が、*M. piperita* および *M. aquatica* の有用形質転換体の作出方法として、有効な方法のひとつであることが示された。

本研究において得たこれらの成果は、*M. piperita* および *M. aquatica* など、ハッカ属植物の育種の発展に寄与するものである。

審 査 結 果 の 要 旨

平成 15 年 8 月 4 日に信州大学農学部において、審査委員全員の出席のもとに博士論文公開発表会が行われ、引き続き質疑応答が行われた。

ハッカ属植物(*Mentha*)は、有用な精油を生産することから歴史的にヒトの生活に深く関わっている。近年、精油の品質およびその生産性の改良を目的として、ハッカ属植物の *Agrobacterium* を用いた形質転換植物体作出の試みが、植物工学および遺伝子工学の発展とともに盛んに行われるようになった。さらに、精油合成経路の解明が進みその酵素遺伝子の同定が進行するに従い、特定遺伝子を導入した新たな形質転換体を作成する試みが始まっている。

本研究は、このようなハッカ属植物を用いた研究の世界的背景のなかで、ハッカ属植物である *M. piperita* および *M. aquatica* を研究対象とし、組織培養技術を用いた育種法並びに *Agrobacterium rhizogenes* を用いた形質転換法を確立することを目的としたものである。

本研究により得られた成果は以下の通りである。

1. *A. tumefaciens* を用いたハッカ属植物の形質転換体作出の報告例はすでに存在するが、*A. rhizogenes* を用いた報告例はない。本研究は、*A. rhizogenes* を用いて、これら *M. piperita* および *M. aquatica* に目的遺伝子を導入した形質転換再生植物体を作成した。
2. *A. rhizogenes* の感染により得た毛状根から、再生植物体に至る各過程、すなわち、毛状根からのカルス化、カルスからシュートの再生及び馴化の各過程における条件を、*M. piperita* および *M. aquatica* において確立した。

3. *M. piperita* において得られた形質転換再生体の中で、精油の品質を左右する成分の一種である menthofuran 含量の減少したものを認めた。また、*M. aquatica* において得られた再生体の中では、普通の親植物では検出されない環状モノテルペン、menthone 及び menthol を含むものを認めた。すなわち、本研究で試みた *A. rhizogenes* を用いるバイナリーベクター法が、*M. piperita* および *M. aquatica* の有用形質転換体を作成する方法として、ひとつの有効な方法であることが示された。

4. 本研究において得たこれらの成果は、*M. piperita* および *M. aquatica* など、ハッカ属植物の育種の発展に寄与するものである。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

1. F. Inoue, H. Sugiura, A. Tabuchi, D. Karasawa and M. Minami (2003)
Alteration of Essential Oil Composition in Transgenic Peppermint (*Mentha piperita*) Carrying T-DNA from *Agrobacterium rhizogenes*.
Breeding Science 53:163-167
2. F. Inoue, H. Sugiura, A. Tabuchi, D. Karasawa and M. Minami (2003)
Plant Regeneration of Peppermint, *Mentha piperita*, from the Hairy Roots Generated from Microsegment Infected with *Agrobacterium rhizogenes*.
Plant Biotechnology, 20:169-172
3. F. Inoue, E. Uchida, A. Komatsu, A. Tabuchi, D. Karasawa and M. Minami (2003)
Transformation of *Mentha aquatica* with *Agrobacterium rhizogenes*.
Japanese Journal of Tropical Agriculture (熱帯農業 in press)