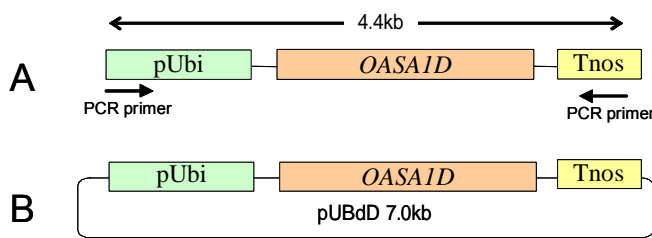


# ウイスカ直接導入法と5MT選抜法によるベクター配列を含まない形質転換体作出技術

## Transgenic Rice Generated by Antibiotic Marker- and Vector Backbone- free Technology

ウイスカ直接導入法を用いて、イネ由来の発現カセット(プロモーター、目的遺伝子およびターミネーター配列)のみを導入したカルスを、5-メチルトリプトファン(5MT)選抜法を用いて選抜することにより、抗生物質耐性遺伝子を用いず、ベクター配列を含まない、実用的な形質転換作物を作出する方法を確立しました。



ウイスカ直接導入法による導入試験に使用されたカセット領域の直鎖状DNA断片(A)と、カセット領域とベクター領域を含む環状DNA(B)

### 発現カセットのみの直接遺伝子導入

ユビキチンプロモーターにイネ由来の改変アントラニル酸合成酵素αサブユニット遺伝子をつないだ発現カセット、または環状プラスミドをウイスカ法を用いてイネカルスに導入し、5MT選抜を行なうことにより、形質転換体が効率的に得られます。

ウイスカ直接導入法と5MT選抜法による形質転換体の作出効率

導入DNA	カルス重量 (g)	シュート形成した選抜カルス数	OASA1D 導入個体数	低コピー (1~2コピー) 導入個体数 (%)
直鎖状 pUBdD	6.0	8	7	2 (28.6)
	6.0	12	12	5 (41.7)
	6.0	17	16	8 (50.0)
<b>Total</b>	<b>18.0</b>	<b>37</b>	<b>35</b>	<b>15 (42.9)</b>
環状 pUBdD	7.5	23	21	4 (19.0)
	7.5	13	13	2 (15.4)
<b>Total</b>	<b>15.0</b>	<b>36</b>	<b>34</b>	<b>6 (17.6)</b>

### 2つの発現カセットによるコトランスフォーメーション

OASA1D発現カセットと他の目的遺伝子発現カセットを一緒に用いることによって、抗生物質による選抜を行なわないで、両方のカセットが導入された形質転換体を効率的に得ることができます。

ウイスカ直接導入法と5MT選抜法を用いた、コトランスフォーメーションによる形質転換体の作出効率

導入遺伝子カセット	カルス重量 (g)	シュート形成した選抜カルス数	OASA1D PCR(+)	DHDPS PCR(+)	順化個体数
OASA1D* / DHDPS**	6.0	21	19	14***	12

\* OASA1D: 改変アントラニル酸合成酵素遺伝子カセット(直鎖状)  
 \*\* DHDPS: 改変ジヒドロジビコリン酸合成酵素遺伝子カセット(直鎖状)  
 \*\*\* OASA1Dが導入された19系統のうち14系統でDHDPSが導入されていた

## 作物研究所 稲遺伝子技術研究チーム

問い合わせ先: 企画管理室 tel: 029-838-8260

E-mail: [www-nics@naro.affrc.go.jp](mailto:www-nics@naro.affrc.go.jp) <http://nics.naro.affrc.go.jp/>

2005 - 4