

アントシアニン色素合成能を有するカンショの培養細胞系の開発

Izabela KONCZAK-ISLAM · 吉永 優 · 中谷 誠 (九州農業試験場)

Izabela KONCZAK-ISLAM, Masaru YOSHINAGA and Makoto NAKATANI :
Induced Sweetpotato Cell Lines Produce Anthocyanin *In Vitro*

近年、アヤマラサキ等紫の肉色を有するカンショのアントシアニン色素が、食用色素等の食品素材として注目を集めている。これらカンショのアントシアニン色素を活用した加工産業を進展させていくためには、原料となるカンショ品種の色素成分を量的にも質的にも改良していくことが必要である。しかし、カンショ塊根におけるアントシアニン色素合成については不明の点も多く残されている。色素をはじめとする二次代謝産物の生合成機構の解明には、しばしば培養細胞系が用いられる。そこで、本研究は、カンショにおけるアントシアニン生合成の機構を解明するための実験系として、アヤマラサキの細胞系を確立することを目的に行った。

1. 材料および方法

カンショ品種アヤマラサキの6カ月間貯蔵庫内で貯蔵された塊根を材料とし、塊根、葉身並びに茎からカルス誘導を行った。塊根からのカルス誘導には、表面殺菌後、調製した塊根切片(5×5×5mm)を用いた。葉身と茎からのカルス誘導には、グロースキャビネット中(28℃、明条件)で種いもから萌芽した苗の最上位の3節からの葉身切片(1×1cm)、茎切片(節間1cm)を用いた。これら組織片は、各種濃度の2,4-DとBAを含むMS培地に置床し、27℃、暗黒条件で培養した。生じたカルスについて、各種条件で増殖・選抜を繰り返し、アントシアニン合成能を有する細胞株(紫)と有しない細胞株(白)を作成した。

2. 結果および考察

塊根片からは、培養6週目には組織片表面に紫色の柔らかなカルスが認められた。また、2,4-Dの1mg/l区

等では、維管束に沿って黄色の硬いカルスの形成も高頻度で認められた(第1表)。紫色の柔らかなカルスを分離し、2,4-D(0.25mg/l)とカイネチン(0.75mg/l)を含むMS培地で増殖したところ、アントシアニン合成能は消失した。この中から、黄色で増殖の早い細胞株を得た。一方、黄色の硬いカルスは、2,4-D(3mg/l)を含むMS培地で、その増殖が良好で、紫色と黄色の硬いカルスが出現した。これらを分離して各種液体培地(27℃、暗黒)で増殖・選抜を繰り返し、増殖は遅いが、色素合成能を有する細胞株と有しない細胞株を得た(第1図)。

葉身片を、2,4-D(0.1mg/l)を含むMS培地で6週間培養すると、体細胞胚の発達が認められた。0.5mg/lの2,4-Dを含む培地では、葉身片の表面にカルスが形成された(第2表)。このカルスを各種の条件で増殖したところ、2,4-D濃度が高い培地では細胞増殖が活発で、一方、低い2,4-D濃度では、細胞増殖は遅いが、強い色素形成が認められた。これを液体培養の中で増殖し、塊根からのものと同様に、色素形成能の有無が異なる2種の細胞株を得た。

茎片からの、カルス形成は遅く、2,4-D(1mg/l)を含むMS培地で、2カ月後にカルス形成の徴候が認められた。このカルスから葉身からの場合と同様に、色素形成能の有無が異なる2種の細胞株を得た。

このように、起源とする組織や色素合成能、増殖速度を異にするいくつかの細胞株を得ることが出来た。現在、これらを用いて、色素合成への光等の培養条件の影響や遺伝子発現の差異の解析を進めているところである。

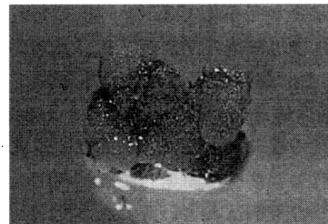
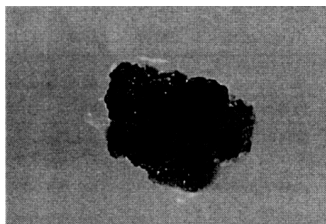
第1表 カンショ品種アヤマラサキの塊根片由来のカルス形成に及ぼす2,4-DとBAの影響

BA濃度(mg/l)	2,4-D濃度(mg/l)							
	0		1		2		4	
	カルス形成率(%)	硬いカルス出現頻度	カルス形成率(%)	硬いカルス出現頻度	カルス形成率(%)	硬いカルス出現頻度	カルス形成率(%)	硬いカルス出現頻度
0	28.5	無	100	高	71.4	中	61.9	無
0.5	85.7	無	95.2	高	85.7	中	80.9	無
1	85.7	無	90.5	高	100	低	85.7	無

第2表 カンショ品種アヤマラサキの葉身片由来のカルス形成に及ぼす2,4-DとBAの影響

BA濃度(mg/l)	2,4-D濃度(mg/l)			
	0	0.1	0.5	1
0	0	0 (SE)	100	84.5
0.5	80	0 (SE)	100	90
1	100	0 (SE)	100	100

注) 表中の数字はカルス形成率(%)で、SEは体細胞胚の形成が認められたことを示す



第1図 アヤマラサキ塊根由来のアントシアニン色素合成能を有する硬いカルス(左)と同起源の白色細胞塊(右)