

第3節. 組織片の培養:教科書 植物バイオテクノロジーP136~137

Theme9.バイオテクノロジー:キクの花弁培養①

目的

一般に、植物から小片を切り出し、特定の植物ホルモンの存在下で培養するとカルスとよばれる未分化な細胞塊として増殖する。このように分化した組織が、分化した性質を失うことを脱分化という。脱分化したカルスを様々な植物ホルモンの濃度を調節することによって、根や茎など、植物体全体を再生することも可能である。このように、分化した生物の一部から脱分化し、再度その生物の個体を構成するすべての組織や器官を分化させて個体を形成する能力を分化全能性という。

キクでは、一部の小花(舌状花)に突然変異が現れることがある。この変異した小花の花弁を培養することによって新しい品種を育成することができるため、その基礎となる花弁培養を行う。

材料

MS 培地 (I 液), NAA:オーキシン (II 液:1mg/1mL),
 BA:サイトカイニン (III 液:1mg/1mL), スクロース, ビタミン液 (IV 液)
 ガスバーナー, 三脚, 金網, 寒天, 100ml 三角フラスコ, スターラー, 葉さじ,
 パスツールピペット, pH メーター,
 メスシリンダー, メスピペット, こまごめピペット, アルミニウム箔, pH 調節用 HCl および NaOH

材料

1. DW(蒸留水)で溶かした I 液:MS 培地(※カイネチン添加済み)をそれぞれ 90ml 程度 200mL ビーカーに入れる。
2. スクロース, 寒天を以下の表の濃度になるよう、調整して計量する。スクロースは MS 培地内に入れて溶かす。寒天は次回使うので、葉包紙に折りたたんでおき、班番号を記載する。
3. NAA (II 液)または BA (III 液)を、図1の濃度になるようにビーカーに入れてよく混ぜる。

これらの濃度は 1mg/mL となっているので、何 mL の NAA および BA を入れれば指定の濃度になるかを計算して入れること。

薬品	分量
MS 培地	
NAA	5mg/L
BA	3mg/L
カイネチン※	1mg/L
スクロース	30g/L
寒天	8g/L
pH	5.5~5.7
全量 200mL	

図1.MS 培地内成分

4. ビタミン液 (IV 液)を 50μL、加える
5. pH を 5.5~5.7 の間に調節する。(pH が高いときには HCl を、低いときには NaOH を適量加えて攪拌しながら合わせる。)
6. 100ml になるように、蒸留水を加えメスアップする。
7. 200mL 三角フラスコに移し替える。
8. サランラップで覆い、班名を書く
9. 湯銭し、寒天等を溶かす。
10. 試験管5本に均等に入れ、オートクレーブをかける。
11. 冷蔵庫で保存する。

第3節. 組織片の培養:教科書 植物バイオテクノロジーP136~137

バイオテクノロジー:キクの花弁培養②

材料

MS培地, 消毒水(100mL ビーカー), すすぎ用滅菌水(50ml ビーカー)×2, 洗浄用 50ml ビーカー×1, 中性洗剤, キクの葉片(必要分), ピンセット, 滅菌ピンセット, 70%アルコールスプレー, ろ紙入り滅菌シャーレ×1, 滅菌ガラス棒, アルミはく, ガスバーナー, チャッカマン

方法:以下の図のように行う

※実験器具(メス, ピンセット)は作業ごとに火炎滅菌すること

図は省略