

## [理学部]

### 33-47 ゼニゴケ遺伝子導入系の構築に向けたいくつかのアプローチ

理学部	助 教 授	高 野 博 嘉
	学 部 学 生	東 納 栄 一 郎
	学 部 学 生	荒 木 裕 子
	学 部 学 生	上 野 華 子
	助 教 授	滝 尾 進
	教 授	小 野 莞 爾

遺伝子導入系の構築は、遺伝子発現解析や実用化を見込んだ形質転換体の作出のみならず、機能未知の遺伝子の同定や突然変異体の単離においても重要である。ゼニゴケは、維管束を持たず体制が単純であること、通常半数体で遺伝子破壊株の単離が容易であると予想されること、葉緑体とミトコンドリアの全塩基配列が決定されていることなどから、細胞形態やオルガネラ形態の解析においてモデル植物となりうる材料である。ゼニゴケの形質転換系は、パーティクルガンを用いた熊大・広島大の共同研究および京都大学の報告があり、アグロバクテリウムを用いた阪大からの報告がある。今回は Bio-Rad 製パーティクルデリバリーシステム PDS-1000/He を用い、京大の方法に準じて、5枚のシャーレ上のゼニゴケ葉状体を、チャンパー内の真空度 26 インチ Hg、試料までの距離 9 cm、ヘリウム圧 900psi の条件で、0.6 $\mu$ m の金粒子を用いて遺伝子導入を行った。導入する DNA は、pBI 101 に CaMV35S プロモーターで発現させたハイグロマイシン耐性遺伝子を組み込んだプラスミドを線状化して用いた。ハイグロマイシン 10 $\cdot$ Lg/m $\cdot$  を含む M51C 液体培地で培養し、一月後には約 350 個の細胞塊が葉状体に出現した。細胞塊を同濃度のハイグロマイシンを含む M51C 固型培地に移し、約 20 個のハイグロマイシン耐性株を単離した。これらの株の DNA を単離し、導入遺伝子の解析を行った。蘇類では、高等植物と異なり相同組換えの頻度が高く、遺伝子破壊ができることが知られている。蘇類と同様に遺伝子破壊が可能であれば様々な遺伝子に対する応用が期待される。さらに、GFP 融合タンパク質を用いた細胞内局在性の解析系も開発中である。

(日本植物学会第64回大会・2000年9月29日-10月1日)