

1053 根粒菌のエレクトロポレーション法による形質転換系の開発
(阪大院・工・応生) ○前田栄彰, 橋本義輝, 室岡義勝

【目的】 根粒菌の遺伝子操作には形質転換が必要であるが、根粒菌で一般に利用できる形質転換系はまだ開発されていない。二価イオンによる形質転換法は一度に多くのサンプルを形質転換できるが、その条件設定に時間を要し、菌種によっては開発が難しいことからエレクトロポレーション法を検討することにした。当研究室で研究しているレンゲソウ根粒菌 *Rhizobium huakuii* bv. rege B3 の形質転換系を確立したので報告する。

【方法及び結果】 B3株のエレクトロポレーションの最適条件を検討した。プラスミドには2つの薬剤耐性を持つpBBR122を使用した。初めに、抵抗を720Ωに固定し、電場を2.5kV/cmから12.5kV/cmまで2.5kV/cmきざみで試験した。電場に対する形質転換効率、指数的に増加し、12.5kV/cmの場合において最良の結果が得られた。次に、電場を12.5kV/cmに固定して抵抗値を試験したところ720Ωの場合において良い結果が得られた。最適条件下での形質転換効率は約 2×10^5 (colonies/ μ g plasmid)であった。B3株より調製したプラスミドは大腸菌より調製したプラスミドより形質転換効率は 1×10^2 高かったことから制限修飾系が効いていることが分かった。さらに、これにより得られたpBBR122を保持するB3株をレンゲソウに感染させたところ根粒を形成した。この根粒より根粒菌を回収したところpBBR122を保持していた。

Transformation of *Rhizobium huakuii* bv. rege B3 by electroporation

YOSHIKI MAEDA, YOSHITERU HASHIMOTO, YOSHIKATU MUROOKA

Dept. Biotechnol., Grad. School Eng., Osaka Univ.

[Key Words] *Rhizobium*, electroporation, transformation, nodulation

1054 レンゲソウ初期ノジュリン遺伝子ENOD40の取得
○田原崇志、中西康彰、藤江誠、室岡義勝*、山田隆
(広大院・先端・分子生命、*阪大・工・応生)

【目的】 マメ科植物は根粒菌との共生による根粒形成において、根粒内で一連の遺伝子群 (nodulin) を発現し根粒機能を制御する。nodulinの中でも初期に発現する遺伝子early nodulinの一つであるENOD40は植物体内において生理活性物質として機能するという報告がある。本研究の目的はレンゲソウのENOD40遺伝子を取得し、その機能を解析することである。

【方法及び結果】 ダイズ (*Glycine max*) のENOD40-2の塩基配列をもとにプライマーを設計し、レンゲソウゲノムDNAをテンプレートとしてPCRを行い、309bpのフラグメントを取得したところ、この断片はENOD40の一部を確かに含んでおり、根粒特異的に発現していた。このフラグメントをプローブとしてレンゲソウ根粒cDNAライブラリよりポジティブクローンを取得した。現在、このクローンについて解析を行っている。

Cloning of ENOD40 from *Astragalus Sinicus* (Renge-sou)

○Takashi Tahara, Yasuaki Nakanishi, Makoto Fujie, Yoshikatu Murooka*, Takashi Yamada
(Dept. Molecular Biotechnology, Graduate school of Advanced Sciences of Matter,
Hirosima Univ. *Dept. Biotechnology, Osaka Univ.)

【Key words】 *Astragalus Sinicus*, ENOD40, Nodulin