

531 クラミドモナス葉緑体における翻訳機構  
○伊藤浩司、小林茎、加藤晃、新名惇彦（奈良先端大・バイオ）

【目的】 本研究では葉緑体での外来遺伝子高発現系の構築を目指し、クラミドモナス葉緑体における翻訳機構の解析、並びに翻訳効率の高い 5'-UTR (untranslated region) を取得することを目的とした。

【方法及び結果】 RuBisCO 大サブユニットをコードする遺伝子 (*rbcL*) のプロモーター領域及び構造遺伝子の一部 (81 bp) と  $\beta$ -glucuronidase (GUS) をコードする遺伝子 (*uidA*) の間に 6 種類 (クラミドモナス *rbcL*, *psbA*, *psbD*; タバコ *rbcL*; ランソウ *rbcL*, *rbcS*) の 5'-UTR を組み込んだ発現系を構築した。これらでクラミドモナス葉緑体を形質転換し、GUS 活性を測定した。その結果、クラミドモナス *rbcL* 及び *psbD* 5'-UTR を用いた場合のみに GUS が翻訳され、他の 5'-UTR では翻訳されなかった。また、*rbcL* の 5'-UTR がとる二次構造を予測し、ステム構造をとる部分に欠失 (5'側からそれぞれ 7 bp、40 bp、69 bp、92 bp の欠失) 及び、塩基置換 (5'側からそれぞれ 1~4 bp、8~11 bp、38~42 bp の位置) を導入した。その結果、40 bp 以上の欠失及び、8~11 bp、38~42 bp の位置に塩基置換を導入した形質転換体は GUS 活性が消失した。これらのことから、葉緑体における翻訳においては 5'-UTR の二次構造が重要であることが予想された。

Translational Mechanism of the *Chlamydomonas* Chloroplast

○Koji Ito, Kei Kobayashi, Ko Kato, Atsuhiko Shinmyo

(Grad. Sch. Biol. Sci., Nara Inst. Sci. Tech.)

【Key Word】 *Chlamydomonas reinhardtii*, Chloroplast, translation, 5'-UTR, *rbcL*

532 シロイヌナズナおよびタバコの *HAL3* ホモログ遺伝子の単離と機能解析  
○中川 篤、仲山 英樹、與那嶺 育子、吉田 和哉、新名 惇彦  
(奈良先端大・バイオ)

【目的】 酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) において、Hal3は陽イオン恒常性に重要な役割を担っており、Hal3がプロテインフォスファターゼ Ppz1の活性を抑制することにより、Na<sup>+</sup>排出を促進することが明らかにされている。植物の陽イオン恒常性の分子機構については不明であるが、酵母と同様な機構の存在を示唆するデータが得られている。そこで本研究では、植物の陽イオン恒常性の分子機構の解明を目的に、植物の*HAL3* ホモログ遺伝子の単離と機能解析を行った。

【方法及び結果】 データベースに登録されているシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の *HAL3* ホモログ遺伝子 *AtHAL3* の部分塩基配列情報をもとに、シロイヌナズナの mRNA を鋳型とする RT-PCR によって 603 bp の *AtHAL3* 部分 DNA 断片を得た。この DNA 断片をプローブとして、シロイヌナズナから *AtHAL3* cDNA (991 bp)、タバコ培養細胞 (*Nicotiana tabacum*, BY2) から *NtHAL3* (1246 bp) を単離した。*AtHAL3* と *NtHAL3* のアミノ酸配列は互いに 72%の相同性であり、どちらも酵母 Hal3 との保存領域を有しているが、酵母 Hal3 に特徴的な C 末端酸性領域は存在しない。また、*AtHAL3* は、染色体上に単コピー存在し、塩の有無にかかわらず構成的に発現していることがわかった。現在、酵母の *hal3* 破壊変異に対する相補能を調べることによって、*AtHAL3* の機能解析を行っている。

Isolation and functional analysis of *HAL3* homologue genes of *Arabidopsis* and tobacco.

○Atsushi Nakagawa, Hideki Nakayama, Ikuko Yonamine, Kazuya Yoshida, Atsuhiko Shinmyo  
(Grad. Sch. Biol. Sci., NAIST)

【Key words】 *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum*, *Saccharomyces cerevisiae*, protein phosphatase, *HAL3* gene, salt stress