

733

根粒で高発現するダイナミンホモログの解析

(阪大院・工・応生、*広大院・工・発酵) 砂子道弘、○矢野幸司、中西康彰*、藤江誠*、山田隆*、林誠、室岡義勝

【目的】マメ科植物と根粒菌の共生系において、根粒の形成過程に直接関与する植物側の遺伝子およびその分子機構についての知見は殆ど得られていない。そこで、マメ科植物であるレンゲソウ *Astragalus sinicus* cv. Japan とその根粒菌 *Mesorhizobium huakuii* subsp. *rengei* B3 株によって形成される根粒中で強く発現するレンゲソウの遺伝子をスクリーニングした。その結果得られた、ダイナミンと高い相同性を示す新規遺伝子 *AsDHI* (*Astragalus sinicus* dynamin homolog 1) についての解析を目的とした。

【方法及び結果】RACE 法によりこの遺伝子は全長 3435 塩基であり 930 アミノ酸残基のタンパク質をコードしていると推定された。また、レンゲソウのゲノム DNA を種々の制限酵素で消化し電気泳動後、*AsDHI* の全長 cDNA をプローブとしてサザン解析を行った結果、*AsDHI* はレンゲソウゲノム中に 1 コピー存在する事が示唆された。この *AsDHI* の全長 cDNA をプローブとして根粒菌感染約 1 ヶ月後の根粒と発芽 5 日目の芽生えについてノーザン解析した。その結果、*AsDHI* が根粒内で強く発現していることが分かった。さらに *AsDHI* の根粒内での発現を、*in situ* ハイブリダイゼーション法により観察した。その結果、根粒先端部にある分裂組織付近でシグナルが観察された。

Analysis of dynamin homolog which was highly expressed in nodule

Michihiro Sunako, ○Koji Yano, Yasuaki Nakanishi*, Makoto Fujie*, Takashi Yamada*, Makoto Hayashi and Yoshikatsu Murooka (Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University. *Fermentation technology, Faculty of Engineering, Hiroshima University)

【Key words】leguminous plant, *Astragalus sinicus*, dynamin, nodule

734

根粒菌感染時に誘導されるフラボノイド合成系の解析
(阪大院・工・応生) ○酒田 充紀、林 誠、室岡 義勝

【目的】マメ科植物と根粒菌の共生関係の成立にあたって、根粒菌が分泌する重要なシグナル物質である Nod ファクターがフラボノイド合成系の鍵酵素であるカルコンシンターゼをコードする *CHS* 遺伝子を発現誘導することが分かっている。*CHS* 遺伝子は病原菌感染時にも発現誘導され、抗菌性物質であるファイトアレキシンを合成しているが、根粒菌感染時における *CHS* 遺伝子の発現制御機構は現在のところ知られていない。*CHS* 遺伝子は遺伝子ファミリーを形成しており、それぞれの *CHS* 遺伝子が別の機構で制御されていると考えられている。本研究では根粒菌感染時における *CHS* 遺伝子の転写調節機構を明らかにし、共生の初期段階におけるシグナルトランスダクションの関連を明らかにすることを目的とする。

【方法及び結果】共生系のモデル材料としてレンゲソウ *Astragalus sinicus* cv. Japan とその根粒菌 *Mesorhizobium huakuii* subsp. *rengei* B3 株を用いた。根粒菌を感染させた組織から totalRNA を抽出し、ホモロジープライマーを用いて RT-PCR により *CHS* 遺伝子の保存配列部をクローニングした。また、その配列より特異的プライマーを作成し、3'RACE 法により 3'UTR に異なる配列をもつ *CHS* 遺伝子を 2 種類クローニングした。その後、それら 2 つの *CHS* 遺伝子の根粒菌感染時における発現蓄積量をノーザン解析、RT-PCR で調べた。

Regulation of flavonoid biosynthetic pathway during rhizobia infection.

○Mitsunori Sakata, Makoto Hayashi, Yoshikatsu Murooka (Dept. Biotech, Grad. Sch. of Eng., Osaka Univ)

【Key words】leguminous plant, rhizobia, flavonoid, CHS