

- 547 タバコの *HAL3* ホモログ遺伝子の単離と機能解析
(奈良先端大・バイオ) ○與那嶺 育子、中川 篤、仲山 英樹、吉田 和哉、
新名 惇彦

【目的】 酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) において、Hal3は脱リン酸化酵素 (Ppz1) の調節サブユニットとして働き、耐塩性および細胞周期制御に機能している。また植物においてもシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) より2種の *HAL3* ホモログ遺伝子 (*AtHAL3*) が単離されており、酵母同様に耐塩性および細胞周期制御に関与していることが示唆されているが、機能の詳細については不明である。本研究では、タバコ (*Nicotiana tabacum*) *HAL3* ホモログ遺伝子 (*NiHAL3*) の塩抵抗性における機能を解明することを目的とした解析を行った。

【方法及び結果】 *AtHAL3a*の部分塩基配列をもとに、シロイヌナズナのmRNAを鋳型とするRT-PCRによって得られた603 bpの部分DNA断片をプローブとして、タバコ培養細胞 (*N. tabacum*, BY2) から *NiHAL3 a* cDNA (1246 bp) を単離した。*NiHAL3 a*をプローブにタバコ植物体からさらに2種、*NiHAL3 b* cDNA (1607 bp)と *NiHAL3 c* cDNA (1351 bp)を単離した。各遺伝子の特異的に識別するプライマーを用いたRT-PCR法により、3種の *NiHAL3* 遺伝子は NaCl 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。さらに、*NiHAL3 a*を過剰発現させた形質転換タバコが 100 mM NaClのストレスに対して耐性を示した。

Isolation and functional analysis of *HAL3* homologue genes in *Nicotiana tabacum*

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

【Key words】 *HAL3* gene, salt stress, RT-PCR, transgenic tobacco, *Saccharomyces cerevisiae*

- 548 タバコ BY2 細胞における *Rhizopus oryzae* 由来の分泌シグナルの機能
(京大院・工・生化, *NAIST・バイオ) ○上森健至, 黒田浩一, 植
田充美, 仲山英樹*, 吉田和哉*, 新名惇彦*, 田中渥夫

【目的】 本研究は、酵母等で開発してきている細胞表層工学を用いて、環境浄化に役立つトランスジェニック植物を創製することに目標を置き、その第一段階として細胞に自ら目的とするタンパク質を外来シグナル配列を利用して分泌させようと試みるものである。指標タンパク質としては、オワンクラゲ *Aequorea victoria* 由来のEGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein) を用いている。

【方法と結果】 植物細胞としてタバコ培養細胞 (BY2) を用い、5'末端に分泌シグナルをコードする遺伝子をつないだ EGFP 遺伝子を組み込んだ。分泌シグナル配列は、植物自身のものでなく、カビの一種である *Rhizopus oryzae* 由来の glucoamylase の分泌シグナルを用いた。得られた形質転換体を調べたところ、EGFP の分泌が確認された。植物において異種由来のシグナル配列が使用された例は少なく、カビ由来の分泌シグナルを用いた本試みは、今後、植物細胞への異種遺伝子資源の導入によるトランスジェニック細胞の育種などにも展開できるものと考えている。また、植物細胞への細胞表層工学の導入への足場となることも期待される。

Function of secretion signal peptide derived from *Rhizopus oryzae* in tobacco BY2 cells

○Takeshi Uemori, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Hideki Nakayama *, Kazuya Yoshida *, Atsuhiko Shinmyo *, Atsuo Tanaka (Dept. Syn. Chem. & Biol. Chem., Grad. Sch. Eng., Kyoto Univ., NAIST Grad. Sch. Biol. Sci. *)

【Key Words】 BY2 cells, secretion signal peptide, transgenic plant, EGFP, glucoamylase, *Rhizopus oryzae*