

Title	イネへの外来遺伝子の導入と遺伝解析
Author(s)	千代, 智之
Citation	
Issue Date	1997-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2380
Rights	
Description	Supervisor: 民谷 栄一, 材料科学研究科, 修士

イネへの外来遺伝子の導入と遺伝解析

千代 智之 (民谷研究室)

【目的】

現在植物細胞への外来遺伝子導入法として、間接導入法と直接導入法の2種類がある。このうち直接導入法では同時に複数の遺伝子を導入することが原理的には可能である。ところがこの方法では外来遺伝子の染色体への導入機構についての知見がほとんど得られていない。本研究では導入機構についての考察を行なうために、植物細胞への直接遺伝子導入法のひとつであるパーティクルガン法を用いて、複数の遺伝子をイネに導入し、これらの遺伝子の発現とともに、後代(子孫)での遺伝子伝達を分離比を用いて調査した。

【実験】

ビアラホス抵抗性遺伝子(*bar*)を持つpDM302、 β -グルクロニダーゼ遺伝子(*gus*)を持つpAct1-F、そしてグリーンフルオレッセントプロテイン遺伝子(*gfp*)を持つpUbi-GFPをパーティクルガン法を用いてイネ品種「ノトヒカリ」(*Oryza Sativa* L. cv. Notohikari)胚盤細胞に導入した。3種類の遺伝子が同一の細胞に入ったかどうかを調べるために、遺伝子導入直後のイネ胚の切片において*gus*と*gfp*の一過的発現を同時に観察した。さらに、遺伝子導入したイネ胚の自殖後代における遺伝子の分離比を調査するために、形質転換植物体を再生させた。形質転換体においてはサザンハイブリダイゼーション法とPCR法を用いて遺伝子の確認を行った。また、PCR法の結果を用いて形質転換体の遺伝子の分離比の調査を行った。

【結果と考察】

遺伝子導入直後のイネ胚での一過的発現を調べたところ、表層の同一部分に*gus*と*gfp*の両方の発現が観測された。その後の除草剤で選抜された3系統のカルスについてPCR法で調べると、全体の63.0%に3種類の遺伝子、残りの37.0%については*bar*と*gus*の2種類の遺伝子が同時に導入されていることがわかった。この3種類の遺伝子の同時導入率は今までに調べられている2種類の遺伝子のco-transformation率(50-70%)とほぼ同等であった。したがって今回の3種類の遺伝子の導入においてもパーティクルガン法が効果的であることが示された。3種類の導入された遺伝子の後代における分離は、ゲノムに3種類全てが存在するものと、3種類のうち2種類が存在するものに分離し、その比率はそれぞれ64.%,36.0%であった。染色体上の近接したひとつの部位に全ての外来遺伝子が導入された場合は、ゲノムに3種類の遺伝子全てが存在するものと、全く存在しないものの2種類に分かれ、その比率はそれぞれ75%,25%になると考えられる。そして導入された遺伝子が2種類検出されるものは観測されないと考えられる。したがって、この分離比の結果はこれまで報告のあった2種類の遺伝子の場合とは異なり、3種類の遺伝子が同一の染色体上の近接した部位に必ずしも導入されていないと考えられた。

keywords

イネ, 遺伝子導入, パーティクルガン法, 一過的発現, 遺伝解析