

土佐生物学会 2000 年度例会プログラム (2000.12.03)

高知大学メディアの森 6 階メディアホール

学会長の挨拶及び連絡事項 10:00-10:10

1. 10:10-10:25

伊藤光二郎・松井透（高知大・理・生物） 蕨類数種の細胞学的研究～胞子体の体細胞分裂～

2. 10:25-10:40

弘田龍也・松井透（高知大・理・生物） 三嶺（高知県・徳島県）の蕨類相

3. 10:40-10:55

山岡和興・松井透（高知大・理・生物） 高知県のシダ植物相の現状

4. 10:55-11:10

松井透（高知大・理・生物） 中国雲南省の旅

休憩 11:10-11:20

5. 11:20-11:35

衣川亜衣子・刈谷朱里・種田耕二（高知大・理・生物） グラスキャットフィッシュの群れ行動

6. 11:35-11:50

石井学・種田耕二（高知大・理・生物） トビハゼの鏡に対する反応

7. 11:50-12:05

種田耕二（高知大・理・自然環境） 魚類における遠近の感覚

8. 12:05-12:20

松岡達臣（高知大・理・自然環境） 原生動物の多様性について

昼食休憩 12:20-13:15

9. 13:15-13:30

原田哲夫・宮田茂樹（高知大学教育学部）， 山下泰弘（本山中学校）， 岡本純人（嶺北高等学校）， 秋山義豊（土佐町中学校） デンマーク・チェコ・ブラジルそして日本縦断旅行記（中高6年一貫校用生物テキスト作りプロジェクト）

10. 13:30-13:45

辻久和寛，三宅尚，石川慎吾（高知大・理・自然環境） 石鎚山地筒上山におけるブナ・ウラジロモミ林の構造と更新

11. 13:45-14:00

倉本 恵生（森林総合研究所四国支所） ところかわれば爽りもかわるー四国の落葉樹林の構造と

ブナの結実ー

12. 14:00-14:15

澤完（高知市）日本産ヤツシロラン類についてーその分布と検索法

13. 14:15-14:30

穴井直博（高知県立のいち動物公園）笹を食べる食肉目レッサーパンダ

休憩 14:30-14:40

13. 14:40-14:55

新井一也（高知大学・理・生物）細胞増殖因子活性を示すミサキマメイタボヤのリン脂質について

14. 14:55-15:10

大濱武・江原恵*・渡辺一生*・生田享介（高知工科大 物質・環境システム工学科，*学術振興会特別研究員）転移・感染力のある藻類オルガネライントロンの系統解析

15. 15:10-15:25

生田享介・江原恵*・渡辺一生*・大濱武（高知工科大 物質・環境システム工学科，*学術振興会特別研究員）ミニレプリコンを用いたクラミドモナスミトコンドリアの形質転換系の確立

総会 15:30-16:00

（庶務会計報告，山中賞選考経過報告，その他）

懇親会 17:30- ”あさくら屋”〔廿代町〕

1. 10 : 10-10 : 25

伊藤光二郎・松井透（高知大・理・生物）

蘚類数種の細胞学的研究～胞子体の体細胞分裂～

蘚類の体細胞分裂での染色体の研究は、配偶体の茎頂にある1個の頂端分裂細胞のみを用いて行われてきた。そのため、必要な分裂像を得る確率は非常に低く、核型の決定などの研究は困難とされてきた。また2n世代の胞子体においても、体細胞分裂による細胞学的な研究はなされていない。今回、減数分裂とあわせて、胞子体の体細胞分裂による染色体の観察を行ったので報告する。

本研究では、まず比較的成長速度が早い減数分裂以前の朔に着目し、体細胞分裂の観察が可能な時期の検討を行った。次に蘚類8科10属11種の材料とし、変形カルノア液で固定後、酢酸オルセイン染色と押しつぶし法を用いて減数分裂および体細胞分裂時の染色体を詳細に観察した。

この結果、現段階で6種で体細胞分裂が観察でき、そのうち3種において染色体数の算定に至っている。また体細胞分裂が観察可能であった時期は、胞子体の内被が各組織に分化する段階と、胞原組織での胞子母細胞形成時であった。これらの組織において多数の分裂像をを一度に観察でることから、これまで困難とされてきた核型の決定などを効率的に行うことができると期待される。

2. 10 : 25-10 : 40

弘田龍也・松井透（高知大・理・生物）

三嶺（高知県・徳島県）の蘚類相

三嶺（標高1893.4m）は、高知県香美郡物部村と徳島県三好郡東祖谷村の境界に位置し、四国で最も自然が残された山として知られている。本山の植生は(1)中腹付近でのモミ・ツガ林、(2)中腹以上でのウラジロモミ・ブナ林、(3)山頂から稜線にかけてのササ・コメツツジの群落、に大別される。

三嶺の蘚類については、これまでにまとまった研究は行われていない。そこで本研究は、本山の蘚類リストを作成するとともに、蘚類相の特徴を明らかにする事を目的とした。

現地調査は1999年4月から2000年10月まで行い、現在約1900点の標本を採集している。今回の報告では、これまで同定を行った約1700点の標本及び、高知大学理学部植物標本庫に保管されている約140点の三嶺産標本を用いた。その結果、三嶺から四国新産種 *Oreoweisia laxifolia* を含む42科122属224種2変種の蘚類を確認した。さらに植生や地形などの生育環境と種の出現数との関係について、三嶺の登山道ごとに比較した。その結果、生育環境の変化に伴い種の出現数も変化し、両者の間に密接な関連が認められた。

弘田・松井(1999)は標本から得られたデータのみを用い、多変量解析を駆使した分析を行い、実際の蘚類植生を非常によく反映した結果が得られると報告している。そ

こで、三嶺の蘚類についても同様の解析を行い、各種ごとに検討を行った。

3. 10:40-10:55

山岡和興・松井透（高知大・理・生物）

高知県のシダ植物相の現状

高知県は温暖多雨で複雑な地形を有することから、シダ植物の豊富な地域であると言われている。環境庁自然保護局(1992)によれば、本県は全国でもシダ種数の多い県とされており、中でもクロガネシダやクロガネシダモドキ、トサノミゾシダモドキの3種は国内では本県でのみ生育が確認されている。

高知県の植物は、これまで牧野富太郎博士をはじめ多くの研究者によって調査研究がなされている。しかしシダ植物については、その後も新種や新産種の報告が多数なされており、特に雑種についての研究は十分とは言えない。

本研究は高知県のシダ植物のリストを証拠標本をもとに作成し、本県のシダ植物相の特徴を明らかにすることを目的としている。現在約4万点の標本を採集しているが、今後も調査採集を継続していく。今回は環境庁自然保護局(1992)から得られた、本県関係のシダ植物の種数や四国のみに見られるシダ植物についてまとめた。また、最近の野外調査に基づき、急激な減少傾向を見せるデンジソウとサンショウモの現状について報告するとともに、意外な場所で発見が続くイヌケホシダやマツパラン、オオタニワタリについての知見を報告する。

4. 10:55-11:10

松井透（高知大・理・生物）

中国雲南省の旅

2000年9月20日から10月19日の1ヶ月間、国立科学博物館と中国科学院昆明植物研究所合同による中国雲南省横断山脈植物調査に参加する機会を得た。本調査は顕花植物から藻類、菌類にいたる幅広い分類群を対象に、本地域の植物相を解明することを目的としている。

今回の調査は3カ年計画の最後にあたり、雲南省北部地域（麗江地区の老君山(4247m)、玉龍雪山(5596m)、大理州の蒼山(4122m)、鶏足山(3248m)などの高山地域、麗江地区の櫟沽湖周辺、迪慶州の虎跳溪などの景勝地）を中心に蘚苔類、地衣類、菌類の調査採集を行った。本地域ではオーストリアのHandel-Mazzetti博士が1914年から1918年にかけて行った長期的な植物調査以来、本格的な調査はなされていない。このため再検討を要すると考えられている種も多く、詳細な調査研究が望まれていた地域でもある。

現在は採集した標本の整理を行っているが、今回は現地における調査の状況や植生、人々の生活などを中心に発表する。

5. 11:20-11:35

衣川亜衣子・刈谷朱里・種田耕二（高知大・理・生物）

グラスキャットフィッシュの群れ行動

グラスキャットフィッシュはきれいな階層的な群れを形成する。この群れ形成の感覚の手がかり（sensory cue）について、以前嗅覚の可能性を報告した。しかし、嗅覚のみによるとすれば、きれいな階層的な群れは考え難い。そのほかの可能性を検討するために次のいくつかの実験を行った。ピーカーに隔離した群れに対して実験個体がどれだけ接近するかを調べたところ、ピーカーが空の場合とほとんど差がなかった。弱い水流、強い水流、攪乱した水流中で群れをつくらせ、個体間距離を測定したところ、水流が強くなるにつれ個体間距離が有意に短くなった。特に、攪乱した水流中では個体間距離は顕著に短くなった。円筒型の容器を回転させたり、円筒を水とともに回転させて視運動反応や走流性を調べたところ、反応はあるものの弱かった。以上の結果から、この魚は仲間の出すフェロモンに集合し、遊泳している仲間が起こした水流に対して接近することによって群れが形成されるものと推論した。

6. 11:35-11:50

石井学・種田耕二（高知大・理・生物）

トビハゼの鏡に対する反応

トビハゼは、昼間の干潮時に泥面上に分散して小動物を捕食する水陸両生の特殊な生活を行う魚である。この魚が陸上にあがっているときは、鳥などの外敵に対する警戒が必要になる。単独でいる場合と集団でいる場合の警戒のしかたを知る目的で、この魚の鏡に対する反応を調べた。容器のまわりに鏡を設置し、その中での魚の行動をビデオで録画した。その記録をもとに一定時間内におけるのべの静止時間を測定した。鏡の枚数を0、1、2、3、4と増やしてそのときの反応を比較した。また、入れる個体数が2尾の場合についても同様の実験を行った。その結果、魚のまわりの鏡の枚数を増加させるのに伴って、静止している時間が増加した。更に、2尾でいるときには単独でいる時よりも静止している時間が長くなった。静止時間の増加を安心感の増加と考えると、鏡の枚数を増やして視覚的に群れ個体数の増加させると、安心感が増すと考えられる。

7. 11:50-12:05

種田耕二（高知大・理・自然環境）

魚類における遠近の感覚

我々が遠近感を持つのは、左右の目で受容した像のずれが原因である。そのためには両眼視が不可欠で、一般に平面的な顔をもった動物ではこの感覚がよく見られるようである。肉食動物の顔は平面的で、遠近の感覚が発達しているが、草食動物の顔は側面に眼がついているため、広い視野は持つが遠近感が発達していないと言われている。

る。魚類でも、中には平面的な眼の配置をしたものもあり、遠近感が可能であることを暗示している。しかし多くの魚は頭の左右に眼がついているので、一見遠近感覚はなさそうに見える。本当に彼らには遠近感がないのであろうか？魚類の眼はいわゆる魚眼レンズとなっているので、頭の側面に眼があっても両眼視は可能である（ただし、正中線の30～40度位に限られるが）。だとすれば、魚類に遠近の感覚があっても不思議はないと思える。魚の遠近感に関する研究はほとんど知られてない。採餌行動については、オプライエンによる「みかけの大きさ（視角）説」が有力視されており、これによると遠近感はないということになりそうである。しかし、我々の研究室で行った実験によれば、メダカが頭上を動く図形に対して逃避する行動では、見かけの角度というより絶対的な大きさに依存していた。また、イエローストライプでは見かけの大きさ（視角）が同じか小さくても、近い方の餌を選択した。以上の実験結果から、魚類にも遠近感があると思えると結論した。

8. 12:05-12:20

松岡達臣（高知大・理・自然環境）

原生動物の多様性について

原生動物とは、藻類を除く65,000種以上の単細胞真核生物群であり、このうちの半数以上は寄生性である。原生動物は単細胞レベルで特殊な小器官を発達させて環境にうまく適応している。このため、その形態、運動様式、摂食様式等において著しい多様性が見られる。繊毛やべん毛の運動によって活発に泳ぎ回る種も多いが、固着生活を営む種の多くは細胞の全体あるいは一部を瞬時に収縮させて外敵から回避する。さらに、環境の変化を感知するための光受容体、温度受容体、機械刺激受容体などの各種の受容体を備えている。摂食様式も多様であり、べん毛虫は外液の可溶性成分を直接取り込むが、アメーバに代表される肉質虫類や繊毛虫の多くはバクテリアや小型のべん毛虫などを食べる。高度に特殊化した捕食小器官をもつ種も知られている。肉質虫類の太陽虫は、細胞体から放射状に伸びた無数の針状の突起（軸足）で小型の餌生物を捕まえる。ゾウリムシのみを食べる繊毛虫デイデニウム前端部の突起は、ゾウリムシを捕らえるための装置である。突起がゾウリムシに接触すると、突起の中に隠している「毒槍」をゾウリムシめがけて打ち込んで捕まえ、自分より大きいゾウリムシをまるごと飲み込んでしまう。生活環のある時期に変身する種も多い。たとえば、春から夏にかけて水田を泳ぎ回っていた原生動物は、秋になって水が干上がる前に稲株の根元付近に集まり、乾燥に耐えられる休眠シストに姿を変える。ソロジェナという繊毛虫は生活環のある時期に多細胞体になる。この種は、環境が悪化すると互いに集まって多細胞体になり、キノコのように徐々に盛り上がって子実体になる。繊毛虫類の有性生殖は、主として接合によって行われる。接合過程では各々の個体は2個の核のうち1個を互いに交換する。性は2つとは限らず、ミドリゾウリムシのように4つの性をもつ種もある。この場合、自分以外の性の個体とならどの性の個体とでも交配が可能である。

9. 13:15-13:30

原田哲夫・宮田茂樹（高知大学教育学部），山下泰弘（本山中学校），岡本純人（嶺北高等学校），秋山義豊（土佐町中学校）

デンマーク・チェコ・ブラジルそして日本縦断旅行記（中高6年一貫校用生物テキスト作りプロジェクト）

平成11年度から2年半の予定で、現在、中高一貫校で使用可能な生物学のテキスト作りを展開している。本プロジェクトのねらいは、一言で表現すれば、「ボーダレス」への挑戦である。私どもが展開しているテキスト作りのボーダレスには以下のような4つの側面がある。

1. 長期的視野に立った、中学校教育と高等学校教育の間の有機的連携
2. 研究者の世界と教育の世界——サイエンスの魅力を教育現場に
3. 地域性と国際性：ローカルとグローバルの間のボーダレス
4. 身近な生活から導びかれる生物教育（生活と教科の間のボーダレス）

また本プロジェクトによって目指すテキストは次のような3つの部分から成っている。

A. 教科書本体； B. ナチュラルヒストリーブック； C. 教師用指導書

上記のボーダレス3を実現するため、2000年1月から2月にかけて約3週間の日程でデンマークとチェコ共和国で生物教育の現状を視察した（視察団：原田哲夫、山下泰弘、岡本純人、秋山義豊）。デンマークでは、本プロジェクトの国際編集委員会のメンバーになって頂いている、Annemarie Andersen 博士（旧：デンマーク王立教育大学、現：デンマーク教育大学）や Nils Moller Andersen 教授（コペンハーゲン大学動物学博物館館長）の案内で、デンマーク教育大学で生物教育について生物教育や環境教育のスタッフと議論したり、コペンハーゲン大学が所有する動物学博物館、地質学博物館、植物園などを訪問視察した。また、コペンハーゲン市内の音楽専攻のギムナジウム、郊外にある小学校を訪問し、それぞれ理科（生物学）の授業を見学し、教官との議論を行った。チェコ共和国では、チェスケブデヨビツエにある南ボヘミア大学とチェコ科学アカデミー昆虫学研究所（いずれも1999年6月高知大学との間に学術交流協定を締結）を訪問、生物科学部、農学部、昆虫学研究所生理生態学部門を中心にスタッフと議論を交わした。チェスケブデヨビツエ市内のギムナジウムと小学校を訪問し、いずれも軟体動物についての授業を見学した。2月1日には、南ボヘミア大学教育学部主催で本プロジェクトを紹介するワークショップを開催、原田が基調講演を行った他、教育学部スタッフからさまざまな御意見を頂いた。今回の訪問・視察が教科書作りプロジェクトの企画に以下のように生かされることが期待される。

1. デンマークの理科教育から：

家庭や校庭などに見られる身近な動植物を題材として、教育効果を上げる。動物領域を扱う第2、第5分冊（全6分冊：教科書本体）では徹底して人間についての記述から入り、他の動物との比較を通して動物の機能などを理解させる。

いずれにしても、デンマークの理科教育の特徴とも思える、“身近な題材から入る”ことにより、生徒の興味を引きつける。

2. チェコ共和国の理科教育から：

ある動物分類群についてのモノグラフ的講義（形態から生理、生態に至るまで、ある生き物について包括的に解説する。）がギムナジウムでも小学校でも展開されていた。このいわば博物学的方式は現代の日本の教育現場では見られなくなって来ている。ある動物についてあらゆる面から検討し、総合的に理解することは、“生きる”ことを理解する上でもう一つの重要な視点となる。本プロジェクトでも、ナチュラルヒストリーブックでアメンボ類のモノグラフ的教材を作る。

また、今回、教材作りと関係して、ブラジル・イグアスでの国際昆虫学会議と日本縦断アメンボ採集・取材旅行の模様を少し紹介したい。

10. 13:30-13:45

辻久和寛，三宅尚，石川慎吾（高知大・理・自然環境）

石鎚山地筒上山におけるブナ・ウラジロモミ林の構造と更新

太平洋側のブナ林では、順調な更新を保障するブナの後継樹が少ないことが知られている。関東周辺のブナ林における生態学的研究では、ブナが衰退して今後カエデ類などの落葉広葉樹に置き換わる可能性が指摘されている。その主な要因として、1) 日本海側に比較して積雪量が少なくげっ歯類による種子の捕食率と冬期の乾燥による種子の死亡率が高まること、2) ブナの種子の稔性が低いことなどが挙げられる。

本州の関東以西の太平洋側や四国では、ブナはウラジロモミと混生することが多く、針広混交林のような景観を呈することが知られている。石鎚山地におけるブナとウラジロモミの分布については、斜面の方位と傾斜角度によってよく説明されているが、それらの林分の維持・更新の様式について論じた研究は少ない。

本研究では、石鎚山地筒上山の北側斜面に広がるブナ・ウラジロモミ林に調査プロット（100 m*100 m）を設置して、樹高 1.5 m 以上の全立木の位置、樹高および胸高直径を記録した。また、現在より 8 年前に調査された林冠ギャップ内の稚樹個体群の再測も行い、過去 8 年間でのその動態について調べた。本発表では、上記の調査結果をもとに調査地のブナ・ウラジロモミ林の構造と更新様式について報告する。

11. 13:45-14:00

倉本 恵生（森林総合研究所四国支所）

ところかわれば実りもかわる－四国の落葉樹林の構造とブナの結実－

ブナは北海道から九州まで広い分布域をもち、その森林の構造（ブナの密度やサイズ構造）に地理変異がみられる。近年、結実パターンに関する地理変異も注目を集めるようになったが、四国地方においては定量的調査がほとんど行われていなかった。

さて、四国では、標高およそ 1000m以上からブナが生育するが、急峻な山岳地形によりブナの分布域は断続的で、個々の広がりも場所によって異なる。たとえば、石鎚や剣などの中央山稜では純林に近く林の広がりも大きい（a）。しかし、周縁山岳ではブナの出現可能な範囲は山の上部に限られ他のいろんな樹種と混交する（b）。さらには周囲を人工林に囲まれてしまった林もみられる（c）。

したがって、四国地方の天然林の状態と今後の推移をはかる際には、こうしたタイプのことなる林の状態を考慮しながら、林ごとの結実のパターンをつかむことが重要になる。

（天然林の機能や状態を評価し保全や配置方式を検討する材料になるし、ある樹種を更新させたり採種を行うときには地域ごとの豊凶予測ができて便利である。これまで、日本の各地方や東北地方の各地域の結実パターンは調べられているが、四国のように場所によって林の様子が大きくことなる場合の比較はなされていない。）そこで3つのタイプに調査地を設定して（a：伊吹山、b：白髪山、c：三辻山）、実を定期回収して結実量と種子の状態を調べた。

1998 年に四国一円で、ブナが一斉にたくさんの花をつけた（ブナはおよそ6年に一度花（実）をたくさん付けることが知られている）が、できた実の量とその中身は3つの林分でかなり異なることがわかった。これは地域的な豊作のずれだけから生じるものでなく、ブナの多さや林の広がりや受粉や食害の程度に影響を与えて、林によって実りに違いをもたらしていることを示すと考えられる。

12. 14:00-14:15

澤完（高知市）

日本産ヤツシロラン類についてーその分布と検索法

13. 14:15-14:30

穴井直博（高知県立のいち動物公園）

笹を食べる食肉目レッサーパンダ

レッサーパンダは、世界絶滅危惧種としてレッドリストに登録されている食肉目で、別名レッドパンダとも呼ばれ、赤茶色の毛色が美しい動物である。中国南部やインド北部、ネパール等の標高 1,500~4,000 メートルの山地に生息し、竹や筍といったイネ科植物を主食にしている。

レッサーパンダは草食性の動物であるが、植物を発酵させエネルギーに変えるための袋状の盲腸や大きな結腸を持たない。胃腸の構造は、外見上肉食動物と同じであるため、笹の消化率は大変低いとされている。そこで、レッサーパンダは活動時の大半を餌を食べることに費やす。しかし、一度に食べる量にも限度があり、生きていくうえで必要なエネル

ギーを得るには厳しい状況にある。ところが、レッサーパンダは休息時、代謝エネルギーを下げる能力を身につけた。そのため、笹を主食としていても生き抜くことができるようになったのである。

レッサーパンダの胃腸は、植物を効率良く消化できる構造ではない。しかし、排泄される糞便は紅茶様臭気があり、発酵されている。レッサーパンダには、まだまだ解明されていないことが多く、その疑問解明に現在取り組んでいる。

1 3. 14:40-14:55

新井一也（高知大学・理・生物）

細胞増殖因子活性を示すミサキマメイトボヤのリン脂質について

海産原索動物ミサキマメイトボヤは出芽による無性生殖を行う。芽体は外側の表皮と内側の囲嚢腔上皮、その間に存在する間充細胞からなっている。芽体は親個体よりくびれ切れると発生が始まり、親個体に近い基部側の囲嚢腔上皮の細胞は脱分化をして基底膜が消失し、分裂・増殖の後、消化管原基を形成する。当研究室で同ボヤから抽出した脂質のうち特にリン脂質が当研究室で樹立された囲嚢腔上皮由来の株化培養細胞に対し、増殖・分散活性を持つことを見出した。

脂質は現在、生体膜の構成成分や栄養素としての働きだけでなく様々な働きが解明されつつある。本研究では脂質の発生時における生体内での役割と、脂質が細胞に影響する際のメカニズムを解明することを目的とし、以下の研究を行う。1) ミサキマメイトボヤより抽出したリン脂質の脂肪酸の組成を分析する。また、このリン脂質は、主にグリセロリン脂質である PE、PC、PS、PI、及びスフィンゴ脂質により構成されているが、これらのうち、どのリン脂質分子種が増殖・分散活性を持つのかを各リン脂質分子種を培養細胞に与えて同定する。2) ホスホリパーゼ A2 (PLA2) 処理により調製したリゾリン脂質と遊離脂肪酸の培養細胞に対する増殖・分散活性の有無を調べる。PLA2 は、グリセロリン脂質のグリセロール骨格の 2 位に結合する脂肪酸（多くの場合不飽和脂肪酸である）を加水分解して遊離させる酵素であり、リゾリン脂質は、この位置に脂肪酸が結合していないリン脂質である。3) 既に当研究室で作製されている種々の抗体を用いて、様々な脂質を与えた時の培養細胞の分化抗原の発現の有無を観察し、細胞の分化状態を探る。4) PLA2 遺伝子のクローニングを行い、この遺伝子のミサキマメイトボヤの芽体発生ステージ別における発現パターンの解析を行う。

以上の結果から、リン脂質が示す細胞増殖活性の作用機構を明らかにしたい。

1 4. 14:55-15:10

大濱武・江原恵*・渡辺一生*・生田享介（高知工科大 物質・環境システム工学科、*学術振興会特別研究員）

転移・感染力のある藻類オルガネライントロンの系統解析

オルガネラの遺伝子の中には Group I や Group II イントロンをもつものがある。これらの中でも、そのイントロン中に active な ORF を持つものは種を越えて感染転移することが出来ると思われている。我々のグループは藻類ミトコンドリアの中で最も保存性の高い遺伝子である、*coxI* 遺伝子を広範囲にスクリーニングする過程で、このことを確認すると同時に以下の事を明らかにした。I) 藻類ミトコンドリアにおいても Group I や Group II を持つ種があること。しかしその分布には極めて強い偏りがあること。珪藻ミトコンドリアで見いだされたイントロンのように、ごく最近種間を越えて転移したと思われる Group II イントロンがあること。同種であれば、世界中どこの海に生息していても同じイントロンを持つことから、イントロンの種内感染力はきわめて強いと思われること。II) また、これまでに菌類、陸上植物、細菌で見いだされている Group II イントロンのデータを総合的にみると、その ORF 内にある 3 つのドメインの壊れ方には一定の順序がある。即ち、HNH-endonuclease ドメイン、逆転写活性ドメイン、maturase ドメインの順に欠損が起こり、ついには ORF を持たないイントロンとなることが予想される。また、Group I イントロンの場合、endonuclease 中に frame-shift を起こす insertion/deletion が生じる場合が多いと思われる。これらから、イントロンがどのように種内から脱感染するのかをモデル化した。

15. 15:10-15:25

生田享介・江原恵*・渡辺一生*・大濱武（高知工科大 物質・環境システム工学科，*学術振興会特別研究員）

ミニレプリコンを用いたクラミドモナスミトコンドリアの形質転換系の確立

クラミドモナス *Chlamydomonas reinhardtii* は、核ゲノム、葉緑体ゲノム、ミトコンドリアゲノムのいずれにも形質転換が可能な単細胞緑藻であるとされている。しかし、ミトコンドリアの形質転換については、野生株から調製したミトコンドリアゲノム全体 (15.8kb) をタングステン粒子に付着させ、これをパーティクルガンを用いた遺伝子導入法を用いて、*cob* 遺伝子の欠損により呼吸能を失った *dum1* 株に対し撃ち込み、ごく低頻度ながら呼吸能を回復した株を得たというのが唯一の報告である (Randolph-Anderson et al., 1993)。本研究では、クラミドモナス呼吸欠損株を形質転換するためのミニレプリコンを構築し、これを細胞内に導入し高頻度で形質転換体を得る系を確立した。i) 一般に葉緑体の形質転換に用いられる直径 $1\mu\text{m}$ のタングステン粒子の代わりに、 $0.6\mu\text{m}$ の金粒子と免疫電顕用の $0.1\mu\text{m}$ の金粒子を混合したものに DNA を付着させ撃ち込むことにより、大きさが約 $1\mu\text{m}$ しかないミトコンドリアへの物理的ダメージを軽減させる。ii) PCR 産物のような線状 DNA ではなく、クローニングのために必要なベクター部を含む、環状プラスミド DNA そのものを撃ち込む。これらの工夫により、原法の約 20 倍の転換効率を得ることに成功し、クラミドモナスミトコンドリアの遺伝子導入法を確立した。今後は、転移・感染力のあるオルガネライントロンを利用し、ミニレプリコンに外来遺伝子を付加し、ミトコンドリアで持続的に発現する系の確立を目指す。