

ゲノムの一部領域の欠失あるいは突然変異と生じた形質の変異が連動しているかを調べることは、遺伝子の機能解析のうえで必須である。

*Chlamydomonas*には野生型のゲノム DNA が約 100Kbp ごとにクローン化された BAC ライブラリーがあり、これを利用して正常な遺伝子を含む DNA 断片を細胞へ導入し、形質が正常に戻るかを調べることが可能である。しかし BAC DNA は遺伝子導入マーカータを持たないので、細胞に薬剤耐性を賦与できる導入マーカータとなる遺伝子も同時に導入操作を行うのが一般的である。この際の薬剤マーカータと BAC DNA の割合を研究テーマとした。*Chlamydomonas*において二種の DNA 断片をモル比 1 : 1 を使用した場合、二つの遺伝子が同時に導入される確率は 50–5%の範囲といわれている。目的とする DNA 断片の導入確率を上げるために多量に遺伝子を用いると細胞質で DNA どうしの結合が起こる。このような連結遺伝子は外来 DNA と判断されやすく発現が抑制されることが知られている。

このような背景を考慮し、薬剤マーカータ 1  $\mu$ g に対し目的遺伝子を 1  $\mu$ g、2  $\mu$ g、3  $\mu$ g とし、ガラスビーズ法で導入操作を行い、薬剤含有プレートで選別したのちマーカータを含まない DNA 分子の協調導入率を PCR で確かめた。

薬剤マーカータは psI103(paromomycin 耐性)、BAC DNA の代用として pExCrGFP というコドンが *Chlamydomonas* 用に改変された GFP 遺伝子を用いた。