

小林武彦

東京大学定量生命科学研究所
教授

遺伝子増幅装置と染色体ベクターの構築

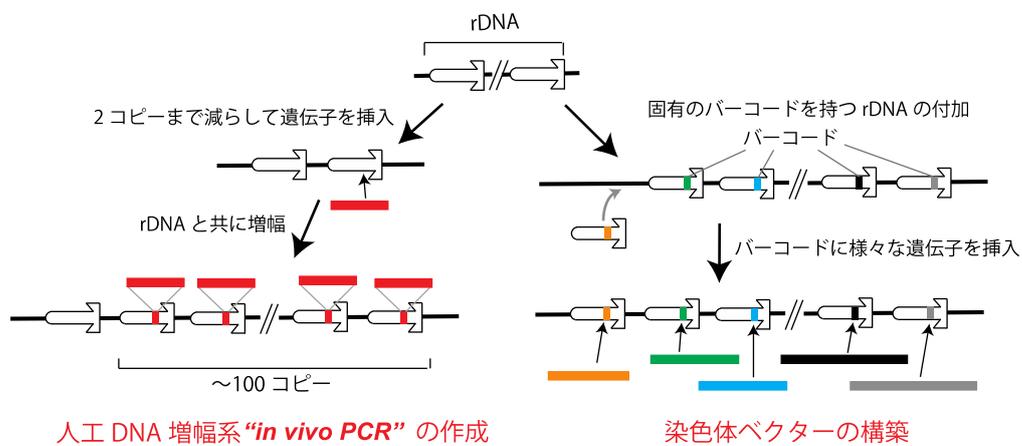
§ 1. 研究成果の概要

出芽酵母のリボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) は遺伝子増幅機構を持ち、100 コピー以上を常に安定に維持している。本課題の目標としては、その増幅・維持機構を利用して、100 以上の遺伝子を組み込むことができる「染色体ベクター」を作成する。さらに染色体ベクターに異なる生物のタンパク質複合体や代謝系に関わる遺伝子を丸ごと組み込み、それらを酵母内で再構築する「*in yeast* 実験系」を確立する。この実験系は、将来的には人工細胞の作成の基盤技術になると期待できる。

染色体の維持機構の解明及び *in yeast* 実験系の確立を目指し、以下の4つの研究項目を実施する。1) rDNA の増幅およびその安定性維持機構の解析、2) メガレベルの染色体構築が可能な遺伝子増幅系の確立、3) 多数の異種遺伝子を組み込むことができる巨大染色体ベクターの作成、4) 染色体ベクターを用いた異種生物反応系の酵母内での再構築、それを利用した解析系の確立。

今年度は1)～3)については計画通りに実験を実施し、以下のような結果を得た。1)については、rDNA の安定性の検出に有効な手法を論文にまとめた (Sasaki & Kobayashi 印刷中)。また rDNA の安定性維持に寄与している遺伝子として CLB5 という S 期の開始および進行を制御するサイクリン依存性タンパク質リン酸化酵素 (CDK) の活性化に必要なサイクリン遺伝子を同定した (後藤ら論文作成中)。2)については、2コピーの rDNA 株に増幅モニターとして挿入する 5-7kb の DNA 断片を選択し、挿入のためのベクターを作成している。3)については5つまでの異種遺伝子を組み込むことができるミニ染色体ベクターを完成させた。

リボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) を利用した DNA の人工増幅系と染色体ベクターの作成



【代表的な原著論文】

Mariko Sasaki and Takehiko Kobayashi, "Gel electrophoresis analysis of rDNA instability in *Saccharomyces cerevisiae*" Homologous Recombination: Methods and Protocols, Springer Nature, in press

§ 2. 研究実施体制

(1) 小林グループ

- ① 研究代表者: 小林 武彦 (東京大学定量生命科学研究所 教授)
- ② 研究項目: 遺伝子増幅装置と染色体ベクターの構築