

2006 年度 卒業論文

単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* における
RNA 干渉関連遺伝子の網羅的検索

高知工科大学
物質・環境システム工学科
1070010 池内絵理

指導教官 大濱 武 教授

2007 年 3 月 20 日

[要旨]

RNA 干渉は、二本鎖 RNA によって配列特異的に mRNA が分解される現象であり、真核生物において標的遺伝子の発現を阻害することによってウイルスゲノムなどの侵入やトランスポゾン排除する防御機構として発達してきたと考えられている。

これまでに、スペクチノマイシン耐性賦与遺伝子 *aadA* を標的とするような RNA 干渉が人為的に誘発された株、RNAi-37 が得られている。この株に対してさらにパロモマイシン耐性賦与遺伝子である *aph* を含むプラスミド DNA (= Tag) をゲノム中にランダムに挿入することで様々な遺伝子が破壊された株が得られている。このような株の中で、RNA 干渉能が低下した株について、どの遺伝子が破壊されたかを調べた。

Tag の導入位置は、RESDA-PCR 法を用いて Tag の上流と下流ゲノム配列の一部を決定し、すでに公表されている単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* のゲノム配列と比較することで決定した。その結果 Tag の挿入により RNAi 反応が著しく弱くなった株 176-10G については、その Tag の挿入位置が scaffold 45 (Release ver.3.0) の 22472 塩基-22550 塩基にあり、破壊された遺伝子は peptidase M14, carboxy peptidase A と相同性がある遺伝子であった。