

外来スペクチノマイシン耐性賦与遺伝子 *aadA* が挿入された ゲノム上の位置の決定

1070036 栗林 弘幸

Hiroyuki Kuribayashi

Determination of the genomic position where exogenous *aadA* gene conferring spectinomycin resistance is inserted

真核生物ではゲノム上に外来遺伝子が人為的に挿入された場合、導入直後は発現しているが、やがて転写されなくなるという現象が見られる。しかし、例外的に安定して転写を続ける場合も知られている。このような例外的な形質転換体の1つとして大腸菌由来のスペクチノマイシン耐性賦与遺伝子 *aadA* が挿入されたクラミドモナス P-1030 株が存在する。大腸菌由来の *aadA* 遺伝子をクラミドモナス内で発現させるために、クラミドモナスの内在性遺伝子の *rbcs2* promoter、*rbcs2* terminator が使われている。この P-1030 株において、*aadA* 遺伝子が例外的に安定に発現している原因として、*aadA* 遺伝子が挿入されたゲノム中の位置が関与している可能性がある。そのため、*aadA* 遺伝子上流にあるゲノム配列の一部を決定し、*aadA* 遺伝子が挿入されたゲノム環境を明らかにすることを目的として実験を行った。

今回の実験では、まずクラミドモナス P-1030 株の DNA に対して 3 回の RESDA-PCR を行った。次にこの PCR 産物を電気泳動にかけ、PCR 産物を切り抜き、シーケンスの決定を行なった。

今回の実験の結果

ゲノム配列の解析結果から *aadA* 遺伝子は内在性の *rbcs2* 遺伝子そのものと相同組み換えを起こしているか、それに極めて近い位置に挿入されており、その周辺領域には多くの遺伝子がコードされている。このことから、*aadA* 遺伝子は活発に転写が行われるゲノム領域に挿入されていることが明らかになった。