

2007 年度 卒業論文

*Chlamydomonas* における polⅢ転写能力の検定

Investigation for the transcription ability  
of RNA polymeraseⅢ in *Chlamydomonas*.

高知工科大学 工学部  
物質・環境システム工学科  
1080029 北村 直輝

指導教授 大濱 武 教授

## [要旨]

真核生物では転写されたヘアピン構造を持つ RNA と相補的な配列を持つ mRNA が特異的に破壊されるという反応が細胞質内で起こる(RNAi 反応)。RNAi 誘起コンストラクトを転写する polymerase を RNA polymerase II (pol II) から RNA polymerase III (pol III) に変えた場合、安定的にヘアピン RNA を転写できるかどうかを調べた。

DNA にメチル化修飾の蓄積した RNAi 誘起用 DNA コンストラクトが pol II により転写されると DNA に結合したヒストンタンパクなどの影響により転写が途中で止まってしまう。そこで、pol II を pol III に変えた場合、DNA がメチル化修飾を受けていても転写が完遂されるかを薬剤含有プレート上での生育速度の差によって検定する。さらに、逆位反復配列 (inverted repeat : IR) を持つ DNA 部分には体細胞分裂に伴いメチル化が蓄積する傾向がある。長期の継代培養においても pol III によりヘアピン RNA が安定的に転写されているかを様々な濃度の薬剤含有プレート上に、培養液をスポッティングして生育させることにより確認した。

その結果、pol III を用いた RNAi 誘起コンストラクトの転写は、細胞内に導入された初期には安定しないが、体細胞分裂を繰り返した約一年後には、その転写が安定する。しかし、安定した状態において生産されるヘアピン RNA 量は同一 RNAi 誘起コンストラクトがゲノム中の同一場所に挿入させていても同じではなく、明瞭な差が見られた。