

分裂酵母 RITS 複合体の *in vitro* での再構成に向けた試み

1200231 谷川 凜

Attempt for reconstitution of *S.pombe* RITS complex *in vitro*

Rin Tanigawa

分裂酵母の RITS 複合体は RNA を分解する RNAi 反応に働き、構成因子は Ago1、Tas3、Chp1 であり、さらに複合体には短い RNA (siRNA) が含まれる。RITS の標的 RNA はヘテロクロマチン由来の ncRNA であり、ncRNA の RNAi による分解産物が siRNA である。この siRNA 生成回路に RITS 複合体は不可欠で、一方で RITS 複合体の形成に siRNA が不可欠である。最初の RITS 複合体と siRNA ができる方法は明らかではない。当研究室は、最初の RITS 複合体は特定の ncRNA (SIRE RNA) の上で siRNA 無しに形成されると作業仮説を立てた。そこで本研究では、RITS 複合体因子を大腸菌で別々に発現させ精製し、RITS の SIRE RNA 依存的な複合体形成の *in vitro* 再構成を試みた。大腸菌でのタンパク質発現と精製には Exact tag を用いることにし、まずは 3 種類のプラスミドの作成を進めた。次に得られたプラスミドを発現ホストの BL21 株に導入し、タンパク質の発現をチェックした。結果、Tas3 と Chp1 の誘導は確認できた。次に Tas3 の可溶性を異なる誘導条件で調べた。ホストを Origami 株に変更した誘導も進め、Origami 株では Tas3 の誘導が確認できた。RITS 複合体因子のタンパク質の発現系は確立し、精製条件設定を進めている。