

## 卒業論文要旨

セントロメアタンパク質 Cnp20 の必須性を回避する遺伝子変異導入の試み  
Generating mutation bypassing the requirement for centromere protein Cnp20

1210197 岡林 弘務  
Hiromu Okabayashi

セントロメアに形成されるキネトコア構造は染色体の安定な継承に必須である。セントロメアタンパク質 CENP-T は、C 末端側のヒストンフォールドドメインが DNA とのエピジェネティックな結合を果たし、N 末端側のドメインがキネトコアの内側と外側とをつなぐ重要な役割を果たしている。分裂酵母 Cnp20 は CENP-T のオースログであり、*cnp20*<sup>+</sup> 遺伝子の破壊 ( $\Delta cnp20$ ) は致死である。しかし近年、他グループのゲノムワイド解析で、*clr5*<sup>+</sup> 遺伝子への変異導入が  $\Delta cnp20$  の致死性を相補することが報告された。Clr5 はヒストン脱アセチル化酵素とともに特定の染色体領域の遺伝子発現をエピジェネティックに抑制することが知られている。*clr5* 変異がキネトコア構造に与えるエピジェネティックな変化が Cnp20 を不要にしている可能性に興味を持ち、本研究では  $\Delta cnp20 \Delta clr5$  二重破壊株の取得を目指した。

最初に *clr5*<sup>+</sup> のコーディング領域を置換した  $\Delta clr5$  株を作成した。次にその株に対して  $\Delta cnp20$  導入操作を行った。しかし正しい  $\Delta cnp20 \Delta clr5$  二重破壊株は獲得できなかった。そこで次は一倍体  $\Delta clr5$  株への  $\Delta cnp20$  導入ではなく、野生型二倍体に  $\Delta cnp20$  と  $\Delta clr5$  を導入してまずは両遺伝子破壊のヘテロ接合型二倍体を作成し、その株の減数分裂を通じて  $\Delta cnp20 \Delta clr5$  二重破壊株を取得する方法を試みている。