

卒業論文要旨

翻訳効率の調整による精密な遺伝子発現誘導システムの開発

1220214 倉迫 美羽

Development of precise gene induction system using translation fine-tuning

Miu Kurasako

部位特異的組換え酵素 Cre の条件的な発現誘導をきっかけに分裂酵母で行われるセントロメア破壊アッセイは、本研究室の重要な基盤技術である。しかし、Cre の条件的な発現誘導のために現在用いている *nmt1* プロモーターには、セントロメア破壊アッセイにとって障害となる問題がある。それは、転写の誘導前の細胞培養条件でも *nmt1* プロモーターからわずかに転写が起こってしまい、それが多くの細胞に表現型を与えてしまうことである。そこで本研究では、翻訳開始効率を低下させる変異を Cre の遺伝子制御領域に導入し、それによって事前の転写の漏れの効果を抑圧するシステムの開発を進めた。

試みたのは、開始コドン ATG を変則的な ATA に置換する方法と、本来の開始コドンの上流の別の読み枠にダミーとなる開始コドン挿入する方法の 2 つである。異なる 3 つの強度の *nmt1* プロモーターの下流に 2 つの異なる翻訳効率変異が導入された Cre をそれぞれ配置し、各プラスミドをセントロメア破壊アッセイ株に導入して表現型を確認した。その結果、ダミー開始コドン挿入したクローンでは転写の漏れによるセントロメア破壊アッセイの障害が抑圧されることが細胞レベルで確認された。本研究における翻訳効率を低下させる実験系は、様々なタンパク質にも応用が可能と考えられる。