

2S23

酵母ゲノム工学の幕開けー染色体分断と移植ー (阪大院・工・応生) ○金子嘉信、原島 俊

染色体工学技術は、自在に染色体を操作することにより、様々な有用形質を持つ細胞をデザインできる新しい技術として期待されつつある。すでに出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を研究材料にして、醤油酵母プラスミドの部位特異的組換えシステムを利用した染色体の相互転座、欠失、逆位の操作技術が開発されている。さらに、われわれは新しい染色体工学技術として細胞内における相同組換えとテロメアの解離現象を利用した染色体分断技術を開発してきた。この染色体分断技術は、多因子有用形質の遺伝子支配解析、染色体の数や長さの遺伝子発現や細胞生理に及ぼす影響あるいは高等動・植物由来染色体の酵母細胞での自在な加工など、様々な応用や研究に利用できると考えている。

染色体分断技術の成果の一つとして、*S. cerevisiae* 一倍体細胞の持つ16本の染色体のうち5本を分断することにより、22本の染色体を持つ自然界には存在しない酵母細胞を造成した。しかし、さらに多くの染色体を分断していくには形質転換体の選択符号の種類に限界があるといった問題を解決しなければならない。そこで、同一のベクターで複数の異なる染色体部位を分断できる改良型分断ベクターを構築し、その有効性を検討した。*S. cerevisiae* には、 δ 配列と呼ばれる繰り返し配列が、ゲノムに200コピー以上分散して存在している。そこで、 δ 配列を標的にした染色体分断ベクターを構築して形質転換を行い、15株の形質転換体を得ることができた。これらの形質転換体を、パルスフィールドゲル電気泳動を用いて核型解析すると、宿主株には見られないサイズの染色体バンドが見られ、少なくとも異なる7ヶ所の δ 配列部位で分断されていることが示唆された。このことより、 δ 配列分断ベクターによって、多数の部位で効率良く染色体を分断できることがわかり、多様なモザイク染色体をもつ酵母株の造成に利用できそうである。

次に、分断により任意の染色体領域を単離し、他の細胞に移植する技術についても検討を行った。第IX番染色体(440 kb)を344 kbと96 kbに分断した株の96 kbの染色体にはURA3選択符号が付加されている。この分断された染色体を他の酵母細胞に移植できるかどうかを試みた。分断染色体をもつ供与細胞を低融点アガロースゲルに包埋して、染色体DNA試料を調製した。このアガロースゲルを融解して供与DNA試料とし、プロトプラスト法によりAB1380 (*ura3*) 株に導入した。その結果、ウラシル非要求性となった形質転換体が5株得られ、パルスフィールドゲル電気泳動を用いて核型解析したところ、3株で宿主株には見られない96 kbの染色体が見出された。このことより、分断された染色体を他細胞へ移植できることがわかった。同じ手法で、第XI番染色体の一部(185 kb)を移植することもできた。

このように染色体分断技術を使って、酵母染色体を任意のサイズに分断し、その分断領域を他の酵母株に移植できることを確認したことは、ゲノム工学による新しい解析・育種法の発展につながるものと期待している。

The dawn of genome engineering in yeast – chromosome splitting and transplantation –

Yoshinobu Kaneko and Satoshi Harashima (Dept. Biotechnol., Osaka Univ.)

【Key Words】 genome, chromosome splitting, chromosome transplantation, yeast