

中央大学特定課題研究費 ー研究報告書ー

所属	理工学部	身分	准教授
氏名	箕浦 高子		
NAME	Kato-Minoura, Takako		

1. 研究課題

（和文）クラミドモナスを用いた改変型細胞骨格の in vivo 機能解析モデルの開発

（英文）Development of a *Chlamydomonas*-based model system to assess the in vivo function of modified cytoskeletons

2. 研究期間

2年間（2018・2019年度）

3. 研究の概要（背景・目的・研究計画・内容および成果 和文 600字程度、英文 50word程度）

（和文）

微小管とアクチン繊維は真核生物に共通の細胞骨格として、生命の基本機能の多くに携わる。これらを構成するタンパク質の一次構造上の変異（差異）と、それがもたらす細胞骨格の特性との関係の理解は、がんなど細胞骨格の異常に起因する疾病のメカニズムの解明や治療薬開発において本質的に重要である。本研究では緑藻クラミドモナスを用い、これら細胞骨格の in vivo（生体内）での機能を高感度で検定できるモデル系の開発を試みた。

ヒト型チューブリン遺伝子とアクチン遺伝子に、それぞれ検出用タグを付加し、エレクトロポレーション（電気穿孔法）によりクラミドモナスに追加的に導入した。いずれの場合も遺伝子の導入自体は確認されたが、導入した遺伝子からの十分なタンパク質発現は認められず、複数の課題を残した。ヒト型チューブリンについては、導入した遺伝子だけでなく内在チューブリンの発現まで強く抑制された。この抑制は、C末端側にタグを付加したクラミドモナス型チューブリンの発現においても認められたが、N末端側にタグ位置を変更することである程度緩和した。クラミドモナスを含む多くの生物の細胞には、細胞内のチューブリン量を調節する機構が存在する。導入遺伝子の発現には、この機構を考慮する必要があることが示唆された。アクチン遺伝子については、プロモーター領域の修正によって導入遺伝子からの発現が可能になる目処が立った。

（英文）

In this project, a model system to test the in vivo function of eukaryotic cytoskeletons, microtubules and actin filaments, was developed using a green alga, *Chlamydomonas*. Human tubulin or actin genes with epitope tags were introduced into *Chlamydomonas* by electroporation. In all cases, exogenous genes were detected within the host chromosomes. The protein expression was, however, extremely low. The reasons have remained to be solved. Since many organisms, including *Chlamydomonas*, have a system to regulate the intracellular tubulin concentration, expression of tubulin from exogenous genes might well require some manipulation of this regulatory system.