

特定遺伝子座における前進性突然変異を GFP 発光により簡便に検出する方法[§]

Easy Detection of GFP-positive Mutants Following Forward Mutations at Specific Gene Locus in Cultured Human Cells

野田朝男 平井裕子 児玉喜明 Warren W Kretzschmar 濱崎幹也
楠 洋一郎 三谷啓志 Harry M Cullings 中村 典

要 約

我々は、テトラサイクリン・オペレーター依存性 *GFP* 遺伝子 (*TetO-EGFP*) とテトラサイクリン・リプレッサー (*TetR*) 遺伝子の組み合わせによって構成される、ヒト fibrosarcoma (HT1080) 細胞を用いた新しい突然変異検出法を開発した。この検出系では、*GFP* 遺伝子の発現が *TetR* 蛋白質により完全に抑制されており、*TetR* 遺伝子は内在性 *HPRT* 遺伝子内に挿入されている。この細胞では、*TetR* 遺伝子に生じたあらゆる不活性化型突然変異、または遺伝子自体の欠失を含む大規模な染色体領域の欠失により、細胞内で *GFP* 遺伝子が高発現 (>200 倍)、フローサイトメーターや蛍光顕微鏡で容易に突然変異 (*GFP* 発光) が検出できる。この新しい細胞株では、*TetR* 遺伝子座における自然突然変異率が細胞分裂 1 回当たり $2.8\text{--}3.4 \times 10^{-6}$ と、HT1080 細胞の内在性 *HPRT* 遺伝子における自然突然変異率よりもやや低いが、変異原としての X 線に線量反応を示した。更に我々は、X 線照射後に自然突然変異率が増加した変異体クローン (つまり遺伝的に不安定な細胞) を分離した。*GFP* 陽性の自然突然変異体では *TetR* 遺伝子の塩基変化による突然変異が大部分であったが、X 線照射後に発生した突然変異体では 6 Mb の範囲に及ぶ大規模な欠失が高頻度に観察された。以上の結果から、バクテリア由来の *TetR/TetO* 制御ユニットはヒト細胞における突然変異検出系として極めて有効であること、またこの系を応用すればヒトゲノムのあらゆる部分 (安定発現を示す遺伝子領域に *TetR* 遺伝子を標的導入) の突然変異感受性について調査できることが判明した。

[§] 本報告書は *Mutat Res* 721:101-7, 2011 に掲載されたものであり、その正文は同掲載論文のテキスト (英文) である。この日本語要約は、日本の読者の便宜のために放影研が Elsevier の許可を得て作成したが、本報告書を引用し、またはその他の方法で使用するときは、同掲載論文のテキスト (英文) によるべきである。