

Tech Talk

ストラタジーン・ジャパンのテクニカルサービスが提供する「Tech Talk」では、分子生物学での基本的な技術や新しいテクノロジー、知っていそうでも実は曖昧になりがちな知識などについて、各回一つのトピックを取り上げ、できるだけ深く掘り下げて紹介していきます。

今回のTech Talkではクローニングやタンパク質の発現などに利用する、大腸菌の遺伝子型と表現型についてまとめてみました。遺伝子型や表現型を理解することが、実験に最適なホスト大腸菌を選択する上で重要な要素となります。普段なにげなく利用している大腸菌ですが、意外と知らないこともあると思いますので是非役に立ててください。

遺伝子型と表現型

遺伝子型 (Genotype) とは、ある生物個体の表現形質を決定する遺伝的背景である。一般に遺伝子がどのような組み合わせで存在するかを表している。特記すべき遺伝子のみを表記する場合が多い。**表現型 (Phenotype)** とは、生物の形態的、生理的な遺伝形質のことで、実際に観察可能な形質である。表現型は遺伝子型によって決定される。

遺伝子型・表現型の表記方法

大腸菌の遺伝子型では、機能が欠損している遺伝子を表記する。例えば、*endA* という表記は *endA* (DNA 特異的エンドヌクレアーゼ I) が機能しないことを示す。遺伝子名は小文字のイタリック3文字 (例: *end*)、遺伝子が更にグループ分けされる場合は大文字を追加して表す (例: *endA*, *endB*)。通常、機能する遺伝子は表記しないが、強調したいときなどに +、反対に - をつけて表示することもある。表現型は最初の1文字を大文字で表記し、+、-、r などを付けることもある。例えば、Tet^r という表記ならテトラサイクリン耐性という表現型。Fエピソーム、プラスミド、トランスポゾンなどをもつ場合は [] や () を使って表記し、存在する遺伝子や表現型を [] や () 内に表記する。例えば、[*argU proL Cam*] なら、プラスミド上に *argU*、*proL* 遺伝子を持ち、クロラムフェニコール耐性表現型という意味 (*argU*、*proL* が機能しないという意味ではないので注意が必要) になる。通常、Fエピソームは保有している場合にのみ表記され、表記がない場合はFエピソームを持たないことを示す。Δ は () 内に表示された遺伝子の deletion を示す。Δ (*mcrA*) なら *mcrA* の deletion、Δ (*lac -proAB*) なら *lac -proAB* 間の遺伝子が全て deletion されていることを表す。

主な遺伝子型と表現型

組み換えに関与する遺伝子

大腸菌内で外来DNAを増幅させると、宿主DNAと外来DNA間、または外来DNA同士の間で組み換えが起きる可能性がある。下記の遺伝子群は組み換えに関与する代表的な遺伝子型である。

recA DNAの組み換えと修復の中心的役割をはたす遺伝子である。この遺伝子に変異をもつことにより、特に直列反復配列を持つDNAの組み換えが抑制される。ストラタジーンのコピペントセルのほとんどはこの遺伝子を欠損している。

recB エキソヌクレアーゼV遺伝子。DNAの組み換えに中心的役割を果たす遺伝子。この遺伝子に変異をもつとDNAの組み換えが約1/100に抑制される。SURE® やSURE® 2株はこの遺伝子を欠損している。

recJ エキソヌクレアーゼ遺伝子。*recA* が関与する経路とは別の組み換え経路に関与する。*recJ* と *sbvC* の両方に変異をもつことにより、Z-DNAの再構成を抑制し、DNAの安定性を向上する。*recJ* と *recB* に両方変異をもつことにより、*recA* 変異株と同様の表現型を示す。SURE® やSURE® 2株は *recB*、*recJ*、*sbvC* 遺伝子を欠損している。

sbvC エキソヌクレアーゼI遺伝子。DNAの組み換えに関与する。*recJ* と *sbvC* の両方に変異をもつことにより、Z-DNAの再構成を抑制する。SURE® やSURE® 2株はこの遺伝子を欠損している。

uvrC、umuC それぞれUV修復とSOS修復経路に関与する。これらの遺伝子に変異をもつことにより逆位リピートの組み換えを抑制する。SURE® やSURE® 2株はこの遺伝子を欠損している。

制限システムに関与する遺伝子

下記の遺伝子は、大腸菌のメチル化パターンとは異なるメチル化DNAを認識し制限 (切断) するシステムに関与している。ほとんどの真核生物由来のDNAはメチル化されており、大腸菌内に導入されると制限システムにより切断される。この制限システムによりメチル化cDNAライブラリー、ゲノムDNAライブラリーなどのメチル化DNAのクローニングの効率が大幅に抑制される。

hsdM DNAアデニン・メチラーゼ。この遺伝子に変異があると部位特異的なアデニンのメチル化ができなくなる。

hsdR *EcoK* 制限エンドヌクレアーゼ。本来メチル化されているはずの配列がメチル化されていないと、外来遺伝子とみなし切断する。この遺伝子に変異があると外来遺伝子の増殖が容易になる。ストラタジーンのコピペントセルのほとんどはこの遺伝子を欠損している。

hsdS *EcoK* 制限エンドヌクレアーゼ。この遺伝子に変異をもつと、HsdM およびHsdRの機能を失う。ストラタジーンのコピペントセルのほとんどはこの遺伝子を欠損している。

mcrA 5'-C*CGG (*メチル化シトシン) 配列のメチル化を認識し切断する。この遺伝子に変異をもつとメチル化DNAを外来DNAとして認識し切断する機能が働かなくなる。ストラタジーンのコピペントセルの多くがこの遺伝子を欠損している。

mcrCB 5'-G⁵*C、5'-G^{3H}*C、5'-G^{N4}*C (*メチル化シトシン) 配列のメチル化を認識し切断する。この遺伝子に変異をもつと、メチル化DNAを外来DNAとして認識し切断する機能が働かなくなる。XL10-Gold®、SoloPack® Gold、96Pack® Gold、XL1-Blue MR、XL1-Blue MRF¹、XL2-Blue MRF¹、SURE®、SURE® 2 株がこれらの遺伝子を欠損している。