

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		同調振動子として機能する人工遺伝子回路の設計および大腸菌細胞への実装			
研究テーマ (欧文) AZ		Designing a synchronous oscillator by means of artificial genetic circuits in <i>E. coli</i> cells			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓) ユギ	名) カツユキ	研究期間 B	2007 ~ 2008 年
	漢字 CB	柚木	克之	報告年度 YR	2009 年
	ローマ字 CZ	YUGI	KATSUYUKI	研究機関名	慶應義塾大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		慶應義塾大学理工学部・助教			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>本研究では、振動子として機能する人工遺伝子回路を大腸菌細胞内に構築し、これらの振動周期を同調させることを最終目標とした。人工遺伝子回路を合理的に設計するためには、構成部品たる各種転写調節因子と、その制御下にあるプロモーターとの入出力関係を定量測定し、その結果に基づいてモデリング・シミュレーションすることが欠かせない。そこで第一の目標として、大腸菌の 1 細胞蛍光イメージングにより、蛍光強度時系列から転写調節因子とプロモーターとの入出力関係を定量測定する系の確立を目指した。</p> <p>測定対象とする転写調節因子には lac リプレッサー (LacI タンパク質)、tet リプレッサー (TetR タンパク質)、λ C_I リプレッサーおよび LuxR アクティベーターを選び、これを赤色蛍光タンパク質 mCherry と融合したものを「入力」のプロープとした。これらの転写因子によって発現強度が制御されるプロモーターの直下には、緑色蛍光タンパク質の変異体である gfpmut3b 遺伝子を配置し、これを「出力」のプロープとした。</p> <p>入出力関係を計測するためには、赤色・緑色の二色蛍光時系列を取得し、そこから入出力プロープそれぞれの細胞内分子数を推定する必要がある。研究助成の対象期間中では、赤色蛍光について、1 細胞の蛍光強度時系列を測定する系を確立した。また、細胞画像およびその蛍光強度から、蛍光プロープの細胞内分子数を推定する手法の開発を現在進めている。今後は分子数推定法の精度を検証し、先に構築した蛍光強度時系列測定系と併せて用いることで、転写調節因子とプロモーターとの入出力関係を定量測定する予定である。</p>					
キーワード FA	人工遺伝子回路	振動子	システム生物学	合成生物学	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

This research project aims (1) construction of an artificial genetic circuits which behaves as an oscillator and (2) synchronization of the oscillatory genetic circuits. To design such genetic circuits rationally, it is necessary to perform modeling and simulation based on kinetic parameters which are obtained from quantitative measurements of input/output relationships of transcriptional regulators and their target promoters. For the first step of this study, we attempted to establish a quantitative measurement system of the input/output relationships of transcriptional regulation by means of single cell imaging of *E. coli*

The “input” probes are lac repressor (LacI protein), tet repressor (TetR), lambda cI repressor and LuxR activator which were fused to mCherry fluorescent protein. The “output” probes are gfpmut3b placed under the promoters regulated by these regulators.

The red/green fluorescent time series must be obtained to estimate the number of intracellular probe molecules, which constitutes fundamentals of measuring kinetic parameters of the “input/output” relationships. In the period of the grant, we established a system for measuring the single-cell fluorescent time series of mCherry i.e. the input side. Currently, we are developing a method to estimate the number of molecules of the “input” probes from the time-series data. This method will be employed in combination with aforementioned time-series measurement system to obtain quantitative input/output relationships of the transcriptional regulators and their target promoters.