

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2019 年度採択研究代表者

2020 年度 年次報告書

小林 武彦

東京大学 定量生命科学研究所
教授

遺伝子増幅装置と染色体ベクターの構築

§ 1. 研究成果の概要

出芽酵母のリボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) はユニークな遺伝子増幅機構を持ち、100 コピー以上を常に安定に維持しています。本課題の目標としては、その増幅・維持機構を利用して、多数の遺伝子を組み込むことができる「染色体ベクター」を作成します。さらに染色体ベクターに異なる生物のタンパク質複合体や代謝系に関わる遺伝子を丸ごと組み込み、それらを酵母内で再構築する「in yeast 実験系」を確立します。この実験系は、将来的には人工細胞の作成の基盤技術になると期待できます。

染色体の維持機構の解明及び in yeast 実験系の確立を目指し、以下の4つの研究項目を実施します。1) rDNA の増幅およびその安定性維持機構の解析、2) メガレベルの染色体構築が可能な遺伝子増幅系の確立、3) 多数の異種遺伝子を組み込むことができる巨大染色体ベクターの作成、4) 染色体ベクターを用いた異種生物反応系の酵母内での再構築、それを利用した解析系の確立。

今年度は1)～3)については計画通りに実験を実施し、以下のような結果を得ました。4)は次年度から開始予定です。

1)については、rDNA の安定性維持に寄与する遺伝子として CLB5 という S 期の複製開始時期を制御するサイクリン遺伝子を同定しました (Goto et al. 2021, スポットライト論文)。この結果から、複製のタイミングもゲノムの安定性維持に重要であることが初めて明らかになりました。2)については、2コピーの rDNA 株に増幅モニターとして約7kb の DNA 断片を挿入し、それが rDNA とともに増幅し維持されることを確認しました。多く遺伝子は7kb よりも小さいので、この遺伝子増幅系はいろんな遺伝子の増幅に使えることが示されました。3)については 18 個の異種遺伝子を組み込むことができる染色体ベクターを完成させました。

§ 2. 研究実施体制

(1) 小林グループ

- ① 研究代表者: 小林 武彦 (東京大学定量生命科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・遺伝子増幅装置と染色体ベクターの構築

【代表的な原著論文情報】

1) Goto, M., Sasaki, M., and Kobayashi, T. (2021) The S-Phase Cyclin Clb5 Promotes rRNA Gene (rDNA) Stability by Maintaining Replication Initiation Efficiency in rDNA *Mol. Cell. Biol.*, DOI: 10.1128/MCB.00324-20 “Spotlight selection” プレスリリース

2) Iida, T., and Kobayashi, T. (2021) Establishment of an “*in yeast*” experimental system *Genes Genet. Systems*, in press