

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

2021 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) は遺伝子増幅および維持機構を持ち、100 コピー以上が常に安定に維持されています。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群を丸ごと組み込み、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されます。

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、解析系の確立。

今年度は以下のような結果を得ました。1) rDNA の安定性維持に寄与する遺伝子としてリボソームタンパク質をコードする *RPS12* 遺伝子を単離しました (Yanagi et al. 2022) この遺伝子に点変異を持つ酵母は rDNA 損傷の頻度が低下していました。加えて rDNA の組換えに促進的に働く非コードの転写が阻害されていることがわかりました。この結果から、非コードの転写が DNA 損傷に関わっていることが示唆されます。また長鎖 DNA 解析法によりヒトの rDNA の構造を初めて解明しました (Hori et al, 2021)。3) 26 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。実際には1つのバーコードに2つの遺伝子が入れますので 52 個の遺伝子導入が可能です。4) 出芽酵母には存在しない RNA サイレンシングに関わる遺伝子群を、染色体ベクターにより導入しています。現在5つ遺伝子の導入が完了し、その働きについて解析しています。

§ 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. Iida, T. and Kobayashi, T. (2021) Establishment of an “in saccharo” experimental system. *Genes & Genetic Systems*, 96: 107–118 [10.1266/ggs.21-00004](https://doi.org/10.1266/ggs.21-00004)
2. Yanagi, S, Iida, T and Kobayashi, T. (2022) *RPS12* and *UBC4* are related to senescence signal production in ribosomal RNA gene cluster. *Mol Cell Biol*, <https://doi.org/10.1128/mcb.00028-22>
3. Hori, Y, Shimoto, A, and Kobayashi, T. (2021) The human ribosomal DNA array is composed of highly homogenized tandem clusters. *Genome Res.* 31: 1971–1982 [10.1101/gr.275838.121](https://doi.org/10.1101/gr.275838.121)