

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

伊藤 隆司

九州大学大学院医学研究院
教授

ゲノム配列の新解釈による設計自由度と進化可能性の獲得

§ 1. 研究成果の概要

ゲノム DNA の正確な複製は、細胞の最も基本的な機能である。DNA 複製フォークの進行が停止すると様々な組換え修復機構が発動されて、その過程でゲノム上に重複・欠失・逆位などの構造多型が生じる。構造多型は進化を加速する駆動力であり、特に遺伝子重複は機能分化による新遺伝子の創出に不可欠である。そこで我々は、ゲノム上の特定の部位で複製フォークの進行を停止させることによって遺伝子重複を誘導する技術の開発を目指している。

我々は、触媒不活性型 Cas9 (dCas9) が出芽酵母において複製フォークの進行を阻害することを明らかにした。そこで我々は、複製起点の G2 期再発火に由来する異常な複製フォークの停止・崩壊を契機とする相同配列のアニーリングによる縦列反復形成に着目し、その場所や効率を dCas9 によって制御することに取り組んできた。その結果、dCas9 よりも直接的に複製フォーク崩壊を誘導できる Cas9 ニッケース(nCas9)を戦略的に配置すれば、S 期の正常な複製フォークの崩壊とそれを契機とする相同配列のアニーリングによる標的領域の縦列反復を高率に誘導できることを見出した。この技術は簡便で汎用性が高く、約 1 Mb の単一コピーゲノム領域の重複にも成功した。さらに、先に報告した dCas9 による縦列反復構造の不安定化機構に関する検討から、nCas9 の戦略的な配置によって縦列反復構造の伸長を誘導する新しい技術も開発した。この技術を用いて約 30 kb の *CUP1* アレイを約 1 Mb にまで伸長することにも成功した。これら2つの技術はいずれも「複製フォーク進行の操作によって外来性断片なしに標的ゲノム領域の重複を誘導する」という新しいコンセプトのゲノム編集技術であり、様々な応用のみならずゲノム不安定性研究のよいモデルにもなり得ると期待される。

§ 2. 研究実施体制

(1) 伊藤グループ

- ① 研究代表者: 伊藤 隆司 (九州大学大学院医学研究院 教授)
- ② 研究項目
 - ・任意のゲノム領域を重複させる技術
 - ・任意のゲノム配列に選択圧をかける技術
 - ・任意のゲノム領域に変異を導入する技術

【代表的な原著論文情報】

1. Okada S, Doi G, Nakagawa S, Kusumoto E, Ito T. (2021) Simple-to-use CRISPR-SpCas9/SaCas9/AsCas12a vector series for genome editing in *Saccharomyces cerevisiae*. *G3 (Bethesda)*. 11, jkab304.