

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

2022 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

主たる共同研究者:

岩川 弘宙 (立教大学 理学部 准教授)

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 saccharo* 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。

現在の3つの研究項目を実施しています。1) rDNA の増幅およびその安定性維持機構の解析、2) 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、3) 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 の安定性に関わる遺伝子として転写伸長因子をコードする *SPT4* 遺伝子を単離しました (Yokoyama et al. 2023)。この遺伝子を欠損した酵母は、rDNA の組換えに促進的に働く非コードの転写が抑制され、rDNA が安定化し寿命が延長しました。さらに興味深いことには、加齢に伴い *SPT4* 遺伝子の発現量が上昇していたことから、この遺伝子は rDNA の不安定化を介して老化を促進し寿命を制限する作用があることが判明しました。2) 29 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 58 個の遺伝子導入が可能です。3) 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。現在分裂酵母6つ遺伝子の導入が完了し、サイレンシングに関わるヘテロクロマチン構造が観察されました。植物の遺伝子についても研究を進めています。

【代表的な原著論文情報】

1) Yokoyama, M., Sasaki, M., and Kobayashi, T. (2023) Spt4 promotes cellular senescence by activating non-coding RNA transcription in ribosomal RNA gene clusters. *Cell Reports* 42 <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111944> プレスリリース

2) Hattori, M, Horigome, C., Aspert, T. Charvin, G. and Kobayashi, T, (2022) Changed life course upon defective replication of ribosomal RNA genes. *Genes & Genetic Systems* 97, 285-295. <https://doi.org/10.1266/ggs.22-00100>

3) 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* e00028-22 <https://doi.org/10.1128/mcb.00028-22>