

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

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

主たる共同研究者:

大学 保一 ((公財)がん研究会 がん研究所 プロジェクトリーダー)

## 研究成果の概要

遺伝子重複は、遺伝子容量効果や遺伝子機能分化を介して、進化の大きな駆動力になる。したがって、随意的な遺伝子重複/分節重複 (segmental duplication; SD) を誘導できる技術は、ゲノム進化への構成的アプローチにおいて重要な意味を持つ。

我々は、出芽酵母をモデルに、複製フォークを Cas9 変異体との衝突によって崩壊に導き、その結果として生じた単一断端性の二本鎖 DNA 切断に対する組み換え修復機構を利用して SD を誘導する技術の開発に取り組んできた。単一コピー領域の縦列重複については、複製起点の両側に Cas9 ニッケース (nCas9) を配置することによって、約 1 Mb の標的領域であっても 10% 超の効率で重複可能な新技術 PNamp を開発した。PNamp は、標的領域の両末端部近傍に位置する相同配列間の single strand annealing によって起こるが、適切な splint DNA 断片を供給すれば両末端部近傍に相同配列を欠く領域であっても縦列重複を誘導できた。また、PNamp の繰り返しによって、標的領域を 4 コピー、8 コピーと反復させることも可能であった。一方、縦列反復構造の伸長については、隣接部位に配置した nCas9 によって惹起した break-induced replication を介して伸長を誘導する新技術 BiTREx を開発した。BiTREx は、2 kb ユニットの縦列反復からなる 30 kb の CUP1 アレイを約 1 Mb まで伸長できたのみならず、CUP1 およびそれ以外の遺伝子座に挿入した外来遺伝子アレイも伸長できた。

PNamp と BiTREx は、「複製フォーク進行の操作を介して内在性ゲノム領域の重複を誘導する」という全く新しいコンセプトのゲノム編集技術であり、様々な応用が期待される。