

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
2018 年度採択研究者

2020 年度 年次報告書

近藤 周

情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所
助教

ショウジョウバエ染色体工学による超巨大 DNA や大規模遺伝子回路の構築法

§ 1. 研究成果の概要

2020年度は、前年度にショウジョウバエ生体内で高効率かつ正確にDNA組換えを誘導することのできるリコンビナーゼ3種を用いて、実際に生体内DNA構築実験を行った。まず、自己切断ペプチド配列T2Aをリンカーとして3つのリコンビナーゼを融合して、1つのORFとして発現する方法を開発した。この融合タンパクはnanosプロモータの下流に配置し、生殖細胞特異的な高発現を可能にした。このトランスジーンをショウジョウバエ1番染色体(X染色体)に挿入したトランスジェニック系統を樹立した。この系統は、単一のリコンビナーゼを発現する系統と遜色ない頻度で染色体間の組換えを誘導することができた。相同染色体間での組換えを可視化するため、左右の末端にCFP, YFP, RFPの異なる組み合わせを配置した2番染色体を構築した。この染色体の内部にはphiC31 attP配列を配置し、部位特異的に並べたい遺伝子を導入できるようにした。並べたい遺伝子をクローニングするためのベクターセットも構築した。タンパク質発現のためのUASベクター、長鎖DNA構築のためのBACベクターのセットを作成した。これらのベクターに代謝経路の酵素群や、ハエ4番染色体の断片をクローニングし、トランスジェニックを構築した。今後は、これらのトランスジーンを組み合わせ、人工遺伝子回路や人工染色体の構築へと進める予定である。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Neuropeptide F signaling regulates parasitoid-specific germline development and egg-laying in *Drosophila*”, *PLoS Genetics*, vol. 17, No. 3, e1009456, 2021
- 2) “Extensive and diverse patterns of cell death sculpt neural networks in insects”, *eLife*, vol. 9, e59566, 2020
- 3) “The Corazonin-PTTH Neuronal Axis Controls Systemic Body Growth by Regulating Basal Ecdysteroid Biosynthesis in *Drosophila melanogaster*”, *Current Biology*, vol. 30, No. 11, pp. 2156-2165.e5, 2020
- 4) “Pits and CtBP Control Tissue Growth in *Drosophila melanogaster* with the Hippo Pathway Transcription Repressor Tgi”, *Genetics*, vol. 215, No. 1, pp. 117-128, 2020
- 5) “Dopamine Receptor Dop1R2 Stabilizes Appetitive Olfactory Memory through the Raf/MAPK Pathway in *Drosophila*”, *Journal of Neuroscience*, vol. 40, No. 14, pp. 2935-2942, 2020