

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
2020 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

石川 聖人

長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部
准教授

リピート配列の相同組換えを保護する細菌ゲノムの分子基盤

研究成果の概要

タンデムリピート配列は、相同組換えによって機能損失するリスクがあるにも関わらず、細菌ゲノム中では安定に維持されている。このことはタンデムリピート配列を相同組換えから保護するシステムの存在を連想させる。この細菌ゲノムの基本原理を解明し、人為的に解除・誘導できれば、DNAを切らずに相同組換えを誘発することや、望まない相同組換えを抑制することなど、今までにないゲノムスケール DNA の操作技術が開発できる。私がこれまで研究してきた長鎖遺伝子 *AtaA* には複数のタンデムリピート配列が存在する。本研究では *AtaA* 遺伝子の宿主である *Acinetobacter* 属細菌 Tol 5 が、これらタンデムリピート配列の相同組換えをどのように保護しているかを明らかにすることで、未知なる細菌ゲノムの機能を解明し、新たなゲノム操作技術の開発に繋げることを目指す。

2022 年度は、前年度に拡張した変異株ライブラリーのなかから、新しいアンチリコンビナーゼの候補遺伝子をスクリーニングすることができた。また、変異株ライブラリーの作成に用いた形質転換効率の向上した Tol 5 変異株を基盤とし、*in vitro* DNA assembly や *in vivo* DNA assembly、ゲノム編集を可能とする実験系を確立した(論文投稿準備中)。

以前の所属先との共同研究で、本研究に関わる成果として、*AtaA* の細胞増殖期依存的な遺伝子発現とナノファイバータンパク質生産に関わる論文を報告した¹⁾。*AtaA* ファイバーは細胞凝集を引き起こすことや、*AtaA* の生産は細胞増殖に負荷となるため、細胞増殖期の後期に多く作られることが明らかになった。加えて、*AtaA* の接着機能部位を特定し、接着機能を有した最小単位のトランケート *AtaA* を構築した論文を報告した²⁾。野生型 *AtaA* を大腸菌で発現させるとその接着機能を十分に発揮できなかったが、トランケート *AtaA* を発現する大腸菌は高い接着機能を示した。トランケート *AtaA* で除去されたドメインには、タンデムリピート配列が多く含まれている箇所であったため、*AtaA* 全長を発現する大腸菌では相同組換えが頻発し、変異の入った *AtaA* タンパク質が多く作られてしまっているのではないかと示唆された。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Growth phase-dependent production of the adhesive nanofiber protein *AtaA* in *Acinetobacter* sp. Tol 5”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 135, No. 3, pp.224-231, 2023
- 2) “Identification of the adhesive domain of *AtaA* from *Acinetobacter* sp. Tol 5 and its application in immobilizing *Escherichia coli*”, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 10, 1095057, 2023