

酵母菌内でのヒト遺伝子を解析する実験系の開発 ～巨大染色体ベクターの構築～

1. 発表者：

飯田 哲史（東京大学定量生命科学研究所 ゲノム再生研究分野・助教）

小林 武彦（東京大学定量生命科学研究所 ゲノム再生研究分野・教授）

2. 発表のポイント：

- ◆酵母菌（出芽酵母、注1）の細胞中でヒトの遺伝子などを解析する新しい実験のシステムを構築しました。
- ◆多くの遺伝子を細胞に導入することができる巨大染色体ベクター（注2）を考案し、それを用いて酵母内でヒトの遺伝子を働かすことに成功しました。
- ◆今後ヒトの細胞などで起こっている生理作用を酵母菌内で再現することで、酵母を用いて薬剤のスクリーニングなどが短時間でできるようになると期待されます。

3. 発表概要：

細胞の働きを知るためには、細胞内で起こっている反応を研究する必要があります。通常、細胞からタンパク質（酵素）を取り出し、試験管内でその働きを調べます。しかし、試験管内で全ての酵素がうまく働くとは限りません。また、たくさんの酵素が関わる反応を試験管内で再構築するのは非常に困難な場合もあります。この技術的な「壁」を解決するために、東京大学定量生命科学研究所の小林武彦教授と飯田哲史助教は、単細胞真核生物である出芽酵母（注1）を「生きた試験管」のように用いた新しい解析方法「インサッカロ (*in saccharo*) 実験系」を考案しました。これにより、細胞からタンパク質を取り出すことなく、タンパク質の機能を研究することが可能となります。

このインサッカロ実験系を可能にするには、多くの遺伝子を酵母内で安定に発現させるための「ベクター」（注2）が必要です。しかし通常のベクターは1~数個の遺伝子しか保持することができません。そこで今回、酵母の染色体（注3）上のリボソーム RNA 遺伝子（注4）領域を利用した「染色体ベクター」を開発しました。リボソーム RNA 遺伝子は反復構造をとっており、特別な安定性維持機構により、理論的には100個以上のヒト遺伝子の導入が可能となります。本研究により、酵母菌内で、ヒトの細胞の反応系を構築及び解析することができ、さらには再構築したヒトの反応系を用いて薬剤のスクリーニングや遺伝解析を行うことができ、加えて実験にかかるコストや時間、実験動物の数を大幅に削減することも可能になると期待されます。

4. 発表内容：

細胞は内部の多く酵素作用によりその働きが支えられています。例えば糖を分解してエネルギーを得て、そのエネルギーでタンパク質を合成し、DNA（注5）を複製し、細胞を増殖させます。また消化酵素やホルモンを分泌する細胞はたくさんのタンパク質を細胞内で生産し細胞の外に放出します。これら細胞の中で起こっている反応を研究することは生物学や医学にとって重要なテーマであることは言うまでもありません。従来、主に2つの研究方法が使われてきました。1つは遺伝学を用いた方法です。これは変異株など、ある特定の機能が変化した細胞を解析することで、その反応に関係する遺伝子を見つけ出す方法です。もう1つの方法は生

化学的な方法で、細胞から取り出したタンパク質を試験管などで調べる方法です。これらの2つの方法により、これまでに非常に多くの細胞内の生理作用についての知見を得ることができましたが、近年限界が見えてきました。例えば細胞から取り出したらうまく働かない酵素もあります。あるいは多くのタンパク質が関わる反応を試験管内で再構築するのは困難な場合があります。この技術的な限界を解決するために東京大学定量生命科学研究所の小林武彦教授と飯田哲史助教は、単細胞真核生物である出芽酵母を「生きた試験管」のように用いた新しい解析方法「イン サッカロ (*in saccharo*) 実験系」を考案しました。*saccharo*とは出芽酵母の学名 (*Saccharomyces cerevisiae* サッカロマイセス セレビセエ) からきています。

この方法では、例えば出芽酵母にヒトの遺伝子を導入してタンパク質を作らせ、そのまま酵母細胞内で解析します。試験管に比べてより細胞に近い生理条件でタンパク質の働きを研究することが可能になります。ただし、その実現には多くの遺伝子を安定に酵母内で発現させるための「ベクター」が必要となります。そこで今回酵母菌のリボソーム RNA 反復遺伝子領域を利用した「染色体ベクター」を開発しました(図)。リボソーム RNA 遺伝子は染色体上に100コピー以上が直列に連なった反復遺伝子で、特別な安定性維持機構により安定に保持されています。この性質を利用して、反復遺伝子の1つ1つに識別のためのバーコード配列を挿入します。例えて言うなら遺伝子を収納するための「部屋番号」をつけるわけです。そこにヒトなどの酵母以外の生物の遺伝子を導入していきます。理論的にはリボソーム RNA 遺伝子の数だけ、つまり100個以上のヒト遺伝子の導入が可能です。今回はモニター実験としてヒトの3つの遺伝子を導入してそれらが安定に保持され、しかも元々酵母にはなかったヒトの遺伝子サイレンシング機構を再現していることを確かめました。将来的には、酵母菌内でのヒトの反応系の解析に加えて、構築したヒトの反応系、例えば発がんに関わる機構、を持つ酵母でそれを抑制する薬剤のスクリーニングや、ヒト遺伝子に新たな変異を導入して酵母で遺伝解析を行うことも可能です。従来の薬剤のスクリーニングの方法に比べ、実験にかかるコストや時間、さらには用いる実験動物の数を大幅に削減することも可能となります。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Genes & Genetic Systems」(6月10日 J-Stage よりオンライン公開)

論文タイトル：Establishment of an “*in saccharo*” experimental system

著者：Tetsushi Iida and Takehiko Kobayashi

DOI 番号：https://doi.org/10.1266/ggs.21-00004

URL：https://www.jstage.jst.go.jp/browse/ggs/advpub/0/_contents/-char/ja?cdstat=&nologrec=

6. 問い合わせ先：

東京大学定量生命科学研究所 ゲノム再生研究分野

教授 小林 武彦 (こばやし たけひこ)

TEL: 090-8457-1168, FAX: 03-5841-8472

E-mail: tako2015@iqb.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

(注1) 出芽酵母：単細胞のカビ、キノコの仲間。パンの発酵、アルコール飲料、醤油など食生活に欠かせない生物で、ヒトを含む真核細胞のモデル生物としてもっともよく研究されています。

(注2) ベクター：遺伝子を組み込んで細胞内に導入するための DNA や RNA。通常は 1~数個の遺伝子を入れることができます。

(注3) 染色体：遺伝情報の発現と伝達を担う生体物質、真核細胞では紐状の構造を持ち、多くの遺伝子を含んでいます。DNA とそれに結合するタンパク質からなります。

(注4) リボソーム RNA 遺伝子：リボソーム (注6) の作用の中心を担う RNA 分子を作る遺伝子。リボソーム RNA は細胞の中の RNA 分子の半分以上を占めるため、その遺伝子も 1 つでは不足に、百個以上が染色体上に直列に並んで存在しています。

(注5) DNA：細胞の中に含まれる紐状の物質で、4 種類の異なる記号が並んでいます。この記号の組み合わせによって、遺伝情報を司る遺伝子がコードされています。染色体を構成します。

(注6) リボソーム：遺伝情報を読み取ってタンパク質を合成する粒子。全ての生物が持つ、もっとも重要で基本的な装置の 1 つです。約 80 種類のリボソームタンパク質と反応の中心を担うリボソーム RNA からなります。

9. 添付資料：

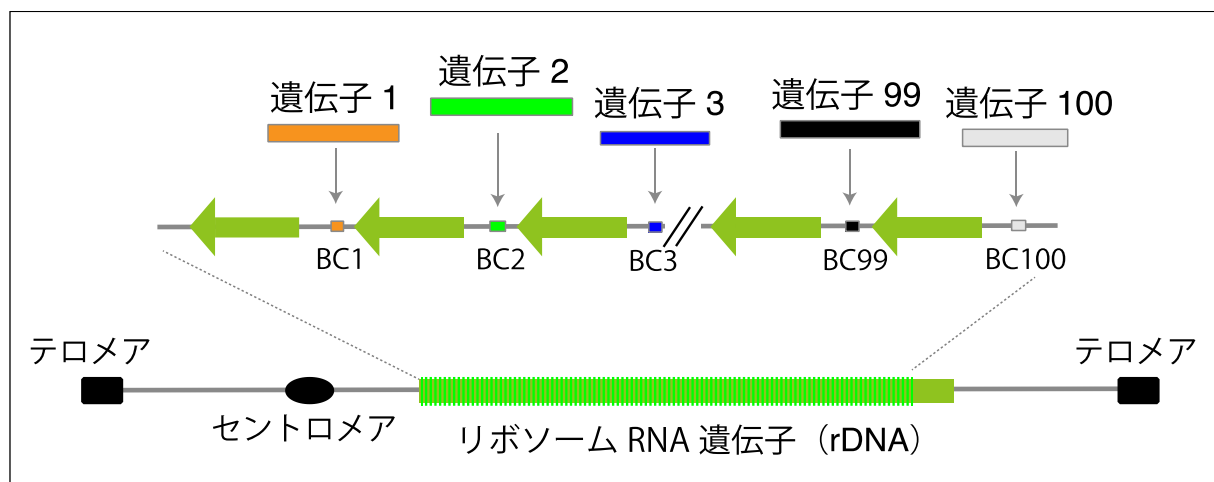


図 染色体ベクター

リボソーム RNA 遺伝子は出芽酵母の 1 2 番染色体上に巨大な反復構造を作っています。各コピーに約 600 塩基対のそれぞれ違った配列を持つバーコード (BC1~100) を挿入します。そこに相同組換えを利用して例えばヒトの遺伝子 (1~100) などを組み込みます。組み込まれた遺伝子はリボソーム RNA 遺伝子の安定化機構により維持され、多くのヒトのタンパク質を合成します。それらは酵母の細胞内で働くことができます。