



研究課題名 スーパー制限酵素を用いた
ゲノム・マニピュレーション工学の創成

東京大学・先端科学技術研究センター・教授 こみやま まこと
小宮山 眞

研究分野：生体関連化学

キーワード：核酸、ゲノム解析、バイオテクノロジー、組換え

【研究の背景・目的】

高等生物の細胞内では、巨大 DNA で構成される染色体の中に数多くの遺伝子ならびに制御因子が正確に配置され、互いにフィードバックしながら精緻なゲノム・システムを構築している。すなわち、ゲノムは多数の遺伝子の単なる集合体ではなく、その中の遺伝子や制御因子が互いに有機的・組織的に密接に関連し、また時空間分布を精密に制御されて生命活動を維持している。したがって、工学・医学・薬学をはじめとする一連のバイオテクノロジーをさらに飛躍的に発展させるためには、ゲノム・システムを積極的に活用し、遺伝子機能を多次的かつ合目的的に制御することが必要である。しかし、これまでは、巨大なゲノム DNA を正確に操作する手段が無く、そのために、ゲノム・システム中で各遺伝子（群）がどのように機能しているかに関する情報は乏しく、また必然的にゲノム・システムを望み通りに有効活用することはできなかった。

我々はすでに、“どのように大きな DNA でも、望みの場所で選択的に切断できる化学ツール（スーパー制限酵素）”の開発に成功している。そこで、本申請研究では、このスーパー制限酵素を用いてヒトをはじめとする高等生物の巨大ゲノムを直接に操作する手法を確立し、これを通じてゲノム・システムを総合的かつ包括的に解明する。こうして、これまでの生命科学の概念を塗り変える『ゲノム・マニピュレーション工学』を創成し、これをゲノムを対象とする次世代バイオテクノロジーへと展開する。

【研究の方法】

我々が開発したスーパー制限酵素を使って、ゲノムを望み通りに改変する技術を確立し、これを活用してゲノム中における各遺伝子（群）の機能を明らかにする。こうして“ゲノム・マニピュレーション工学”を創成する。すなわち、スーパー制限酵素によりゲノムを所定の位置で切断し、
(1) 特定遺伝子を相同組み換えで別の遺伝子に変換し、また (2) 特定遺伝子をノックアウトする。さらに、(3) 位置選択的切断により所定の2個の遺伝子（あるいは遺伝子と制御因子）を空間的に切り離して互いに断絶する。そのうえで、これらのゲノム操作が生化学的特性（転写効率や関連タンパク質の細胞内分布など）に及ぼす影響を

定量的に評価する。また、(4) スーパー制限酵素を使ってゲノムから所定部位を切りだし、その中の遺伝子群の機能を精密に *in vitro* 解析する。こうして、ゲノム中での遺伝子（群）の機能ならびに遺伝子間の相互コミュニケーションを解明する。

【期待される成果と意義】

現状のバイオテクノロジーでは、細胞の中に導入した各遺伝子は“単独で機能する素子”として捉えられており、細胞内のゲノム（遺伝子群）との相互作用はほとんど無視されている。そのために、導入した遺伝子の発現効率、発現時系列、生化学機能も、“単独に機能する素子”を前提として評価されている。明らかにこれでは不十分であり、極端な場合には、実際には細胞内で非常に有効に機能する遺伝子がスクリーニング・プロセスで選別し漏れてしまう危険性さえある。したがって、本申請研究で得られる知見に基づいてゲノム・システムを正しく理解できるようになれば、新たなバイオテクノロジーやゲノム創薬法などが開発できるものと期待される。また本研究で確立する“ゲノムを正確にマニピュレーションする技術”が、ゲノム自体を改変する遺伝子治療に直接に有用であることは言うまでもない。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- [1] “Artificial restriction DNA cutter for site-selective scission of double-stranded DNA with tunable scission-site and specificity”, M. Komiyama, Y. Aiba, Y. Yamamoto, J. Sumaoka, *Nature Protoc.*, 3, 655-662 (2008).
- [2] “Homologous Recombination in Human Cells using Artificial Restriction DNA Cutter”, H. Katada, H. J. Chen, N. Shigi, M. Komiyama, *Chem. Commun.*, 6545-6547 (2009).

【研究期間と研究経費】

平成22年度－26年度

400, 400千円

【ホームページ等】

<http://www.mkomi.rcast.u-tokyo.ac.jp/index.html>