

2016年度湘南藤沢学会「研究助成基金」成果報告書

CRISPRi と呼ばれる手法を用いた最小細胞 (Syn3.0)における 機能未知遺伝子の調査

慶應義塾大学 環境情報学部 3年

田中一己

1. 活動日程・場所

活動日程：2016年8月15日～2016年9月20日

場所：J. Craig Venter Institute, 4120 Capricorn Lane, La Jolla, CA 92037, USA

2. 活動の目的

J. Craig Venter Institute (JCVI) の合成生物学グループはたった473 遺伝子だけで生物として機能する細胞を作成した (Hutchison et al., 2016). この細胞で注目すべき点は、生物として生存するのに必要不可欠な遺伝子の25%は機能未解明なことである。これらの遺伝子の機能を調べることによって生存に必要な新規メカニズムを見つけることができる可能性がある。私は世界最小細菌を研究するための遺伝的、計算的ツールを開発するために今夏JCVI に研究学生として参加し、優秀な学生と研究者と交流して、最先端の技術を学ぶ。本研究の成果は国際学術誌への投稿を控えており、JCVIにおいて議論した内容を踏まえて論文を投稿したいと考えている。私個人として成長するとともに慶應を含む国際協力にも貢献したい。

参考文献

Hutchison, C. A. et al. Design and synthesis of a minimal bacterial genome. *Science* 351,aad6253 (2016).

3. 活動の成果

Escherichia coli において clustered regularly interspaced short palindromic repeats interference (CRISPRi) という手法を用いて遺伝子発現が制御できることが先行

研究で報告されていたが、我々は JCVI で作成された世界最小細菌において CRISPRi を用いて遺伝子の発現を制御する手法を初めて確立した。また、Syn3.0 における機能未知遺伝子の機能を明らかにするためにタイムコースの実験を行う予定のため、mCherry (蛍光タンパク質) の遺伝子の CRISPRi による発現抑制とその後の発現促進のタイムコースを調べ、キネティクスを明らかにし、試験の手法も確立した。成果は毎週グループミーティングで発表し、様々な研究者と議論を交わすことができた。また、自身以外の研究者による最新の研究成果が発表され、今後の研究の参考になった。



ラボでの写真

4. 今後の発展

今回は遺伝子の発現量が簡便に測定できるように mCherry 遺伝子発現を制御したが、今後は今回確立した手法を用いて mCherry 以外の遺伝子の制御にも応用していく予定である。また、Syn3.0 の遺伝子を CRISPRi で制御した時の時間変化を調べ、そのときのフェノタイプを観察することによって機能未知遺伝子の機能を明らかにしていきたいと考えている。本研究の成果は国際学術誌への投稿を控えており、今回交わした議論を踏まえて論文の執筆に取り組む予定である。

5. 謝辞

本研究を行うにあたり、資金面で援助いただきました湘南藤沢学会に御礼申し上げます。