

Catalytically inactive Cas9 impairs DNA replication fork progression to induce focal genomic instability

土井, 吾郎

<https://hdl.handle.net/2324/4475019>

出版情報 : Kyushu University, 2020, 博士 (医学) , 課程博士
バージョン :

権利関係 : (c)The Author(s)2021. Publishedby Oxford University Press on behalf of Nucleic Acids Research. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.



氏 名： 土井 吾郎

論 文 名：Catalytically inactive Cas9 impairs DNA replication fork progression to induce focal genomic instability

(触媒不活性型 Cas9 は DNA 複製フォークの進行を阻害し局所的なゲノム不安定性を誘発する)

区 分：甲

論 文 内 容 の 要 旨

触媒不活性型 Cas9(dCas9)は、標的遺伝子の転写活性化および不活性化、生細胞可視化、そして塩基編集のツールとしての利用が、益々、盛んになりつつある。dCas9 が塩基の置換や挿入欠失を引き起こすことは知られていたが、より大きな構造変化に関する報告はなかった。本研究で我々は、dCas9 が出芽酵母において複製フォークの進行を阻害し、タンデムリピート構造を不安定化させることを明らかにした。約 16 個の反復単位からなる *CUP1* アレイを dCas9 の標的にすると、ほとんどの細胞で *CUP1* アレイが、特にニコチンアミド共存下で短縮した。複製中間体の解析では、dCas9 結合部位の近傍で複製フォークが停止していることが示された。遺伝学的解析の結果、dCas9 によるゲノムの不安定化は、レプリソーム進行複合体の構成要素である Ctf4 と Mrc1 や、アクセサリヘリカーゼである Rrm3 によって抑制される一方、組み換えを司るタンパク質である Rad52 や Rad59 による一本鎖アニリングによって促進されることが示された。dCas9 による複製フォークの進行阻害は、従来からある dCas9 応用における潜在的なリスクとなるが、ゲノム不安定性のメカニズム研究およびその操作の双方における新しいツールとなるかも知れない。