

2023 年度年次報告書

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

松永 幸大

東京大学 大学院新領域創成科学研究科
教授

異種ゲノム制御による光合成作動細胞の創製

主たる共同研究者:

刑部 敬史 (徳島大学 大学院社会産業理工学研究部 教授)

佐藤 優子 (東京工業大学 科学技術創成研究院 助教)

西原 秀典 (近畿大学 農学部 准教授)

研究成果の概要

細胞融合により構築した藻類ゲノムを動物培養細胞に移行させた基盤融合細胞の解析を進めた。DNA と DNA の相互作用を解析できる Micro-C 解析 (Micrococcus Nuclease を使用してクロマチンを裁断して解析する Hi-C より派生した方法) を用いて、基盤融合細胞のゲノムを解析した。その結果、動物培養細胞ゲノムに挿入された藻類ゲノムは、藻類ゲノム同士の相互作用の頻度は高いが、動物培養細胞との相互作用は低いことがわかった。遺伝子の転写抑制は DNA メチル化が主原因であることが昨年度判明したため、DNA メチル化酵素をノックアウトすることで、動物培養細胞に移行した藻類ゲノムの遺伝子抑制を解除したところ、転写を検出することに成功した。また、藻類から葉緑体を単離して、動物培養細胞に取り込ませることに成功し、単離葉緑体の動物培養細胞内における動態を明らかにした。さらに、葉緑体ゲノムの動物培養細胞内における安定性を調べるために、藻類の葉緑体ゲノムとミトコンドリアゲノムを明らかにした。また、融合細胞におけるシゾン遺伝子転写活性化や、エピゲノム動態を可視化するための Mintbody プローブの改良および新規開発を進めた。改良型プローブを用いてクロマチンドメインの生細胞動態を詳細に解析できることを確認した。さらに、動物培養細胞内における藻類ゲノム由来光合成遺伝子発現を検証するため、光合成遺伝子を含む長鎖 DNA を保持するエピソーマルベクターを構築した。また構築したベクターを動物培養細胞に導入し、導入ベクターが安定に細胞核内で複製されていることを確認した。最後に、ロングリードデータを用いた DNA メチル化検出をより高精度化した解析手法を基盤融合細胞に応用する解析パイプラインを構築し、DNA メチル化酵素をノックアウトした融合細胞のメチル化状態の変動を明らかにした。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Ito, N., Sakamoto, T., Oko, Y., Sato, H., Hanamata, S., Sakamoto, Y., and Matsunaga, S. Nuclear pore complex proteins are involved in centromere distribution. *iScience*, **27**, 108855, (2024).
- 2) Nishihara, H., Toda, Y., Kuramoto, T., Kamohara, K., Goto, A., Hoshino, K., Okada, S., Kuraku, S., Okabe, M., Ishimaru, Y. A vertebrate-wide catalogue of T1R receptors reveals diversity in taste perception. *Nature Ecol. Evol.* **8**, 111–120, (2024).
- 3) Wang, N., Wang, Z., Tzourtzou, S., Wang, X., Bi, X., Leimeister, J., Xu, L., Sakamoto, T., Matsunaga, S., Schaller, A., Jiang, H., and Liu, C. The plant nuclear lamina disassembles to regulate genome folding in stress conditions. *Nature Plants*, **9**, 1081-1093, (2023).
- 4) Takusagawa, M., Misumi, O., Nozaki, H., Kato, S., Maruyama, S., Tsujimoto-Inui, Y., Yagisawa, F., Ohnuma, M., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T., and Matsunaga, S. Complete mitochondrial and chloroplast DNA sequences of the freshwater green microalga *Medakamo hakoo*. *Genes Genet. Syst.* **98**, 353-360, (2023).
- 5) Goto N, Suke K, Yonezawa N, Nishihara H, Handa T, Sato Y, Kujirai T, Kurumizaka H, Yamagata K, Kimura H. ISWI chromatin remodeling complexes recruit NSD2 and H3K36me2 in pericentromeric heterochromatin. *J. Cell Biol.* **223**, e202310084, (2023).