

2024 年度年次報告書

細胞操作

2023 年度採択研究代表者

谷内江 望

大阪大学 ヒューマン・メタバース疾患研究拠点
特任教授

DNA イベントレコーダー細胞

主たる共同研究者:

井上 大地 (大阪大学 大学院生命機能研究科 教授)

小嶋 良輔 (東京大学 大学院医学系研究科 准教授)

洲崎 悦生 (順天堂大学 大学院医学研究科 教授)

諸石 寿朗 (熊本大学 大学院生命科学研究部 教授)

研究成果の概要

本研究では細胞搭載型の観察記録システムによって細胞が経験する様々なイベントを人工 DNA メモリーに書き込んでいく「DNA イベントレコーダー」を開発し、マウスの全身発生の細胞系譜および分化地図を手に入れ、次世代の生命科学のバックボーン・リソースとなるものを得る。

昨年度に引き続き、高解像度マウス細胞系譜の記録、試験管内マウス胚培養、マイクロ RNA の活性動態を記録、および細胞外小胞 (EV) の運命 (fate) 記録 (EV fate レコーディング)、のための基盤技術群の整備を進めた。具体的には、Target-AID を恒常的あるいは Cre もしくは doxycycline 依存的に発現する塩基編集レポーターを有するマウスラインを樹立した。これらのマウスラインから得られた IVF 胚に対して、Barclock v2 アレイライブラリーおよび piggyBac トランスポゾンを用いて前核インジェクションし、E13 胚までの細胞系譜推定に必要なパイロットデータを取得した。試験管内マウス胚培養については、胎生 5.5 日 (E5.5) から E11.0 までの胚培養に対応する基本プロトコルを確立した。さらに、マイクロ RNA 活性の経時的変動を観察するため、E13 マウス胚に最適化した組織透明化および染色プロトコルを完成させた。EV fate レコーディング技術については、prime editor のバージョンや EV 内への prime editor の封入法を最適化し、細胞内 (in cellulo) における EV を介した prime editor の送達および記録効率を著しく改善することに成功した。2025 年度は、本年度までに整備したこれらの基盤技術群を用い、実際にマウス胚を対象として細胞系譜、マイクロ RNA 活性動態、および EV fate の統合的な記録・解析を実施していく予定である。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Ishiguro, S., Ishida, K., Sakata, R. C., Ichiraku, M., Takimoto, R., Yogo, R., Kijima, Y., Mori, H., Tanaka, M., King, S., Tarumoto, S., Tsujimura, T., Bashth, O., Masuyama, N., Adel, A., Toyoshima, H., Seki, M., Oh, J. H., Archambault, A. S., Nishida, K., Kondo, A., Kuhara, S., Aburatani, H., Klein Geltink, R. I., Yamamoto, T., Shakiba, N., Takashima, Y., and Yachie, N. A multi-kingdom genetic barcoding system for precise clone isolation. *Nature Biotechnology*, 10.1038/s41587-025-02649-1. Advance online publication. (2025).
- 2) Aoyama, Y., Yamazaki, H., Nishimura, K., Nomura, M., Shigehiro, T., Suzuki, T., Zang, W., Tatara, Y., Ito, H., Hayashi, Y., Koike, Y., Fukumoto, M., Tanaka, A., Zhang, Y., Saika, W., Hasegawa, C., Kasai, S., Kong, Y., Minakuchi, Y., Itoh, K., ... Inoue, D. Selenoprotein-mediated redox regulation shapes the cell fate of HSCs and mature lineages. *Blood*, 145(11), 1149–1163 (2025)
- 3) Otomo, K., Omura, T., Nozawa, Y., Edwards, S. J., Sato, Y., Saito, Y., Yagishita, S., Uchida, H., Watakabe, Y., Naitou, K., Yanai, R., Sahara, N., Takagi, S., Katayama, R., Iwata, Y., Shiokawa, T., Hayakawa, Y., Otsuka, K., Watanabe-Takano, H., Haneda, Y., ... Susaki, E. A. descSPIM: an affordable and easy-to-build light-sheet microscope optimized for tissue clearing techniques. *Nature communications*, 15(1), 4941 (2024).
- 4) Kunitake, K., Mizuno, T., Hattori, K., Oneyama, C., Kamiya, M., Ota, S., Urano, Y., & Kojima, R. Barcoding of small extracellular vesicles with CRISPR-gRNA enables comprehensive, subpopulation-specific analysis of their biogenesis and release regulators. *Nature communications*, 15(1), 9777 (2024).