

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
2018 年度採択研究代表者

2019 年度 実績報告書

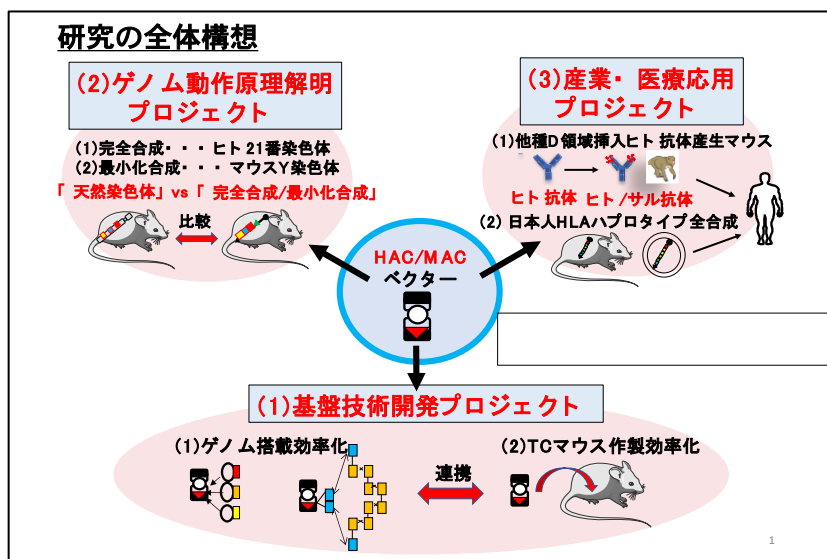
香月康宏

鳥取大学染色体工学研究センター
准教授

ヒト/マウス人工染色体を用いたゲノムライティングと応用

§ 1. 研究成果の概要

本研究の目的は HAC/MAC 技術を用いて、「Mb 単位の合成 DNA を目的細胞に効率的に導入する基盤技術開発」を行い、「ゲノム配列の動作原理の解明」と「産業応用および医療応用」を目指すことである。具体的には、以下の3つのプロジェクトを実施した。



【1】基盤技術開発プロジェクト:

1 度に HAC/MAC 上に搭載できるサイズの拡張とクローニング期間の短縮、を目的として、1) DT40 細胞における遺伝子導入システムおよび2) CHO 細胞における改良型 SIM の開発を継続した。また、TC マウス作製の効率化を目的として、1)マイクロセル高効率誘導薬剤探索および2)人工染色体可視化技術の開発、を実施した。主な成果として、化合物 2 種類の処理により、微小核細胞融合法によるヒト iPS 細胞からヒト細胞への染色体導入を行ったところ、染色体導入が可能であることが示された。また、麻疹ウイルスエンベロープタンパク質を用いた微小核細胞融合法をヒト iPS 細胞に適応することで各種染色体ベクターのヒト iPS 細胞への導入に成功した。

【2】ゲノム動作原理解明プロジェクト: 特定染色体の「完全合成」および「最小化合成」目的として、「完全合成」はヒト 21 番染色体の 1Mb の領域をターゲットに、「最小化合成」はマウス Y 染色体をターゲットとして、研究を進めた。それぞれで必要な BAC クローンの改変に成功した。

【3】産業・医療応用プロジェクト: 完全ヒト抗体遺伝子導入マウスの IgD 領域配列を他種動物へ置換すること、およびヒト HLA 遺伝子について完全合成ヒト遺伝子を搭載した HAC を作製し、マウスを作製することで、産業応用・医療応用を目指し、研究を進めた。ヒト IgDH 領域の他種動物へ置換のために、合成 DNA の 11 断片全ての合成が完了した。一方、ヒト IgDH 領域(約 43kb)削除に成功し、同領域への遺伝子挿入サイト導入に成功した。ヒト HLA 遺伝子の合成について、人工染色体に搭載するため、遺伝子発現制御領域配列断片と人工合成 HLA-A 遺伝子コード領域配列断片を連結させることに成功した。

【代表的な原著論文】

該当なし

§ 2. 研究実施体制

(1) 香月グループ

- ① 研究代表者: 香月康宏 (鳥取大学染色体工学研究センター 准教授)
- ② 研究項目
 1. DT40 細胞を用いた同時・連続相同組換え法の開発
 2. ミクロセル高効率誘導薬剤探索
 3. HAC/MAC 保持ミクロセルの濃縮
 4. 新規 TC マウス作製法の開発
 5. ヒト 21 番染色体「完全合成」
 6. マウス Y 染色体「最小化合成」
 7. 日本人 HLA ハプロタイプ全合成

(2) 富塚グループ

- ① 主たる共同研究者: 富塚一磨 (東京薬科大学生命科学部 教授)
- ② 研究項目
 1. ヒト抗体重鎖遺伝子 D 領域置換とマウスへの導入

(2) 鈴木グループ

- ① 主たる共同研究者: 鈴木輝彦 (東京都医学総合研究所 主席研究員)
- ② 研究項目
 1. CHO 細胞を用いた改良型 SIM 法の開発
 2. ES 細胞を用いた迅速相同組換え法の開発

(3) 水谷グループ

- ① 主たる共同研究者: 水谷英二 (東京大学医科学研究所 特任准教授)
- ② 研究項目
 1. 新規 TC マウス作製法の開発