

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

2020 年度 年次報告書

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、マイクロセル高効率誘導薬剤によるマイクロセル形成メカニズムの解明および、人工染色体を保持する汎用細胞株の作製に成功した。

[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。主な成果として、マウス人工染色体を用いたヒト21番染色体導入マウスにおけるヒト21番染色体上の遺伝子発現量について明かにした。

[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人工染色体を作製し、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。細胞レベルでヒトIgDH領域の他種動物へ置換に成功した。ヒトHLA遺伝子の合成について、人工染色体上に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搭載させることに成功した。

§ 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. マイクロセル高効率誘導薬剤探索
 3. HAC/MAC保持マイクロセルの濃縮
 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) 冨塚グループ

① 主たる共同研究者: 冨塚一磨 (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

(3) 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

(4) 水谷グループ

① 主たる共同研究者: 水谷英二 (筑波大学医学医療系 特任准教授)

② 研究項目

1. 新規 TC マウス作製法の開発

【代表的な原著論文情報】

- 1) Moriwaki T, Abe S, Oshimura M, **Kazuki Y***. Transchromosomal technology for genomically humanized animals. *Exp Cell Res.* 2020 May 15;390(2):111914. doi: 10.1016/j.yexcr.2020.111914. *Corresponding Author
- 2) **Kazuki Y***, Gao FJ, Li Y, Moyer AJ, Devenney B, Hiramatsu K, Miyagawa-Tomita S, Abe S, Kazuki K, Kajitani N, Uno N, Takehara S, Takiguchi M, Yamakawa M, Hasegawa A, Shimizu R, Matsukura S, Noda N, Ogonuki N, Inoue K, Matoba S, Ogura A, Florea LD, Savonenko A, Xiao M, Wu D, Batista DA, Yang J, Qiu Z, Singh N, Richtsmeier JT, Takeuchi T, Oshimura M, Reeves RH. A non-mosaic transchromosomal mouse model of down syndrome carrying the long arm of human chromosome 21. *Elife.* 2020 Jun 29;9:e56223. doi: 10.7554/eLife.56223. *Corresponding Author
- 3) **Kazuki Y**, Uno N, Abe S, Kajitani N, Kazuki K, Yakura Y, Sawada C, Takata S, Sugawara M, Nagashima Y, Okada A, Hiratsuka M, Osaki M, Ferrari G, Tedesco FS, Nishikawa S, Fukumoto K, Takayanagi SI, Kunisato A, Kaneko S, Oshimura M, Tomizuka K. Engineering of human induced pluripotent stem cells via human artificial chromosome vectors for cell therapy and disease modeling. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2020 Dec 19;23:629–639. doi: 10.1016/j.omtn.2020.12.012.
- 4) Suzuki T, Katada E, Mizuoka Y, Takagi S, **Kazuki Y**, Oshimura M, Shindo M, Hara T. A novel all-in-one conditional knockout system uncovered an essential role of DDX1 in ribosomal RNA processing. *Nucleic Acids Res.* 2021 Jan 27:gkaa1296. doi: 10.1093/nar/gkaa1296.