

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

2021 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、2018 年度に発見した化合物 2 種類を用いることで、ヒト iPS 細胞に保持された人工染色体をヒト iPS 細胞に、A9 細胞等の異種細胞を介さず、直接導入することが可能となった。

[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、ヒト 21 番染色体導入ラットにおける、ヒト 21 番染色体の安定性とヒト 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 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。非コード領域削除により約 43kb から約 7.8kb に短縮したヒトミニマル化 Ig 重鎖 DH 領域を含む改変 Ig-NAC 保持キメラマウスを作製し、ヒト抗体レパトワ解析を実施した。ヒト HLA 遺伝子の合成について、遺伝子発現制御領域配列と人工合成 HLA-A 遺伝子コード領域配列を搭載した人工染色体をヒト iPS 細胞に導入することが可能となった。

§ 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. 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) 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基礎医科学研究分野 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 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】

*Corresponding Author

- 1) Satofuka H, Abe S, Moriwaki T, Okada A, Kazuki K, Tanaka H, Yamazaki K, Hichiwa G, Morimoto K, Takayama H, Nakayama Y, Hatano S, Yada Y, Murakami Y, Baba Y, Oshimura M, Tomizuka K, and **Kazuki Y***. Efficient human-like antibody repertoire and hybridoma production in trans-chromosomal mice carrying megabase-sized human immunoglobulin loci. *Nat Commun.* 2022 April 5. doi:10.1038/s41467-022-29421-2.

- 2) Uno N*, Takata S, Komoto S, Miyamoto H, Nakayama Y, Osaki M, Mayuzumi R, Miyazaki N, Hando C, Abe S, Sakuma T, Yamamoto T, Suzuki T, Nakajima Y, Oshimura M, Tomizuka K, **Kazuki Y***. Panel of human cell lines with human/mouse artificial chromosomes. *Sci Rep.* 2022 Feb 22;12(1):3009. doi: 10.1038/s41598-022-06814-3.
- 3) **Kazuki Y***, Gao FJ, Yamakawa M, Hirabayashi M, Kazuki K, Kajitani N, Miyagawa-Tomita S, Abe S, Sanbo M, Hara H, Kuniishi H, Ichisaka S, Hata Y, Koshima M, Takayama H, Takehara S, Nakayama Y, Hiratsuka M, Iida Y, Matsukura S, Noda N, Li Y, Moyer AJ, Cheng B, Singh N, Richtsmeier JT, Oshimura M, Reeves RH*. A transchromosomic rat model with human chromosome 21 shows robust Down syndrome features. *Am J Hum Genet.* 2022 Feb 3;109(2):328-344. doi:10.1016/j.ajhg.2021.12.015.
- 4) Abe S, Honma K, Okada A, Kazuki K, Tanaka H, Endo T, Morimoto K, Moriwaki T, Hamamichi S, Nakayama Y, Suzuki T, Takehara S, Oshimura M, **Kazuki Y***. Construction of stable mouse artificial chromosome from native mouse chromosome 10 for generation of transchromosomic mice. *Sci Rep.* 2021 Oct 8;11(1):20050. doi: 10.1038/s41598-021-99535-y.
- 5) Miyake T, Tsutsui H, Haraya K, Tachibana T, Morimoto K, Takehara S, Ayabe M, Kobayashi K, **Kazuki Y***. Quantitative prediction of P-glycoprotein-mediated drug-drug interactions and intestinal absorption using humanized mice. *Br J Pharmacol.* 2021 Nov;178(21):4335-4351. doi: 10.1111/bph.15612.