

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

白髭 克彦

東京大学定量生命科学研究所
教授

機能的人工染色体の設計と利用のための革新的研究

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、長鎖 DNA を用いたゲノム改変を可能にするために必要な基本技術の確立を目指している。以下の3つの研究テーマに並行して取り組んでいる。

[1] エンハンソームの構造と機能の理解（白髭、相澤グループ）

遺伝子発現の制御装置であるエンハンソームを、生化学とゲノム学的手法を併用して研究している。エンハンソーム中に DNA モーターであるコヒーシオン・Nipbl 複合体が含まれていたが、その機能の一つは転写伸長抑制因子 NELF の制御であることを本年度明らかにすることができた。また、細胞内のエンハンサー-プロモーター相互作用を高精度に検出できる新手法 MicroChIP の確立にも成功した。この手法により、ある遺伝子の発現を制御するエンハンサー領域を網羅的に決定することが容易になり、遺伝子発現の時空間プログラミングの機構解明に大きく資すると期待している。

[2] 染色体脆弱部位の理解と予測（白髭グループ）

ゲノムの安定維持に機能する Smc5/6 複合体が染色体上で結合している領域の特性を解明してきた。数理モデリングにより、遺伝子転写に起因する正の超らせんの蓄積が Smc5/6 結合を引き起こすことが示唆された。本年度は、酵母染色体上にモデルが予測するような要因を人為的に導入すると Smc5/6 結合が誘起されることを確かめ、モデルの妥当性を実験的に確認した。

[3] 長鎖 DNA を培養細胞に効率よく導入する技術の開発（大杉、竹内グループ）

長鎖 DNA を核化し、人工細胞(リポソーム)に収めたのち、細胞融合によって標的細胞に導入するという手法を考えている。そのために必要な技術の一つである、タンパク質等を高濃度に含む試料を低温下でリポソーム化する手法を確立することに本年度成功した。精子クロマチンとカエル卵抽出液を内封したリポソームを作製したところ、リポソーム内で細胞核形成が進行することを確認することもできた。

§ 2. 研究実施体制

(1) 白髭グループ

- ① 研究代表者: 白髭 克彦 (東京大学定量生命科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・発現制御機構の再構築系による研究
 - ・染色体脆弱性の分子基盤の解明

(2) 相澤グループ

- ① 主たる共同研究者: 相澤 康則 (東京工業大学生命理工学院 准教授)
- ② 研究項目
 - ・長鎖 DNA 合成系の確立・最適化

(3) 大杉グループ

- ① 主たる共同研究者: 大杉 美穂 (東京大学大学院総合文化研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・細胞核封入系の開発

(4) 竹内グループ

- ① 主たる共同研究者: 竹内 昌治 (神奈川県立産業技術総合研究所研究開発部 グループリーダー)
- ② 研究項目
 - ・リポソーム封入技術の開発

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Codependency and mutual exclusivity for gene community detection from sparse single-cell transcriptome data”, *Nucleic Acids Research*, vol. 49, no. 18, page e104, 2021
- 2) “Cohesin-dependent chromosome loop extrusion is limited by transcription and stalled replication forks”, *Science Advances*, in press, 2022