

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  
2020 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書
------------------

松永 幸大

東京大学大学院新領域創成科学研究科  
教授

異種ゲノム制御による光合成作動細胞の創製

## § 1. 研究成果の概要

本年度は植物ゲノムを動物培養細胞に移行させた基盤融合細胞の構築を進め、シゾンゲノムを保持する動物培養細胞を 30 ライン以上構築した。また、基盤融合細胞のゲノムをリシークエンス解析することでシゾンゲノムの 90%以上を移植した動物培養細胞ラインも 3 ライン以上獲得できた。移植ゲノムの動態を探るために、シゾンや動物培養細胞の 3 次元ゲノム構造解析を明らかにした。次に、移植ゲノムの転写活性化を図る手法を検討した。まず、DNA メチル化の解析の結果、遺伝子の転写抑制は DNA メチル化が主原因であることが示唆された。DNAメチル化阻害剤を使用することで、移植した植物ゲノムから転写を増大させる技術の開発に成功した。また、移植したシゾンゲノムの動態を解析する方法として、ヒストン修飾特異的抗体由来の一本鎖可変領域と蛍光タンパク質を融合させた蛍光プローブ (modification-specific intracellular antibody, mintbody) を用いた観察系を利用した。Mintbody を使用したヒストン修飾変化を可視化するイメージング手法や、mRNA の転写を担う RNA ポリメラーゼ II の活性化イメージング手法の開発に成功した。さらに、最小ゲノムを持つ淡水性緑藻のゲノム配列を決定し、最小ゲノムを持つ海水性緑藻と淡水性紅藻のゲノムと比較解析することで、光合成遺伝子群セットを同定した。その光合成遺伝子群のプロモーターを解析し、相同領域を同定した。また、葉緑体を導入した動物培養細胞を作製するために、シゾンの単離葉緑体の光合成活性や動物培養細胞の光特性を明らかにした。さらに、ヒト細胞に高効率で長鎖 DNA を送達可能とするために必要なアグロバクテリウム基盤株の構築を進めた。

## § 2. 研究実施体制

### (1) 松永グループ

- ① 研究代表者: 松永 幸大 (東京大学大学院新領域創成科学研究科 教授)
- ② 研究項目
  - ・動物培養細胞への藻類ゲノム移植による基盤融合細胞の作製
  - ・細胞遺伝学的解析・ゲノム解析・発現解析による特徴解析および CRISPRa/i によるゲノム活性化因子の同定
  - ・光合成遺伝子群のプロモーター活性化因子の同定
  - ・非分解型単離葉緑体の作製
  - ・動植物基盤融合細胞における移植ゲノムの核内 3 次元解析

### (2) 佐藤グループ

- ① 主たる共同研究者: 佐藤 優子 (東京工業大学科学技術創成研究院 助教)
- ② 研究項目
  - ・移植ゲノムのエピゲノム解析とイメージングによる核内配置解析
  - ・光合成ゲノムが光照射時特異的に起動する発現システムの構築

### (3) 刑部グループ

- ① 主たる共同研究者: 刑部 敬史 (徳島大学大学院社会産業理工学研究部 教授)
- ② 研究項目
  - ・光合成遺伝子群のプロモーター活性化因子の同定
  - ・長鎖 DNA 細胞核送達システムの開発

## 【代表的な原著論文情報】

- 1) Yuko Sato and Hiroshi Kimura “Multiplexed Imaging of Posttranslational Modifications of Endogenous Proteins in Live Cells”, *Methods in Molecular Biology*, 2350, 31-41. 2022
- 2) Satoshi Uchino, Yuma Ito, Yuko Sato, Tetsuya Handa, Yasuyuki Ohkawa, Makio Tokunaga, and Hiroshi Kimura “Live imaging of transcription sites using an elongating RNA polymerase II - specific probe”, *Journal of Cell Biology*, 221, e202104134. 2021
- 3) Yuko Sato and Hiroshi Kimura “Dynamic Behavior of Inactive X Chromosome Territory During the Cell Cycle as Revealed by H3K27me3-Specific Intracellular Antibody”, *Methods in Molecular Biology*, 2329, 237-247. 2021
- 4) Mio K. Shibuta, Takuya Sakamoto, Tamako Yamaoka, Mayu Yoshikawa, Shusuke Kasamatsu, Noriyoshi Yagi, Satoru Fujimoto, Takamasa Suzuki, Satoshi Uchino, Yuko Sato, Hiroshi Kimura, Sachihiko Matsunaga “A live imaging system to analyze spatiotemporal dynamics of RNA polymerase II modification in *Arabidopsis thaliana*”, *Communications Biology*, 4, 580. 2021