

多細胞間での時空間的相互作用の理解を目指した定量的解析基盤の創出
2019 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書

永樂 元次

京都大学 ウイルス・再生医学研究所
教授

遺伝子制御ネットワークの理解に基づく臓器創出技術の開発

§ 1. 研究成果の概要

本研究はヒト多能性幹細胞(PSC)の分化系を用いてヒト初期発生の制御ネットワークを網羅的に解明し、新たな臓器創出技術を開発することを目的としている。本年度は、ヒトPSCからの自発的な胎盤細胞分化の詳細な分子機構の解析を行い、プライム型ヒトPSCが自発的にBMPシグナルを活性化することによって胎盤細胞に分化することを明らかにした。この時、PSCは初期羊膜細胞様の細胞状態をへて、栄養膜細胞および羊膜細胞へと分岐した分化様式を示すことが明らかになった。マウスPSCは胎盤細胞への分可能を失っていることから、ヒトを含む霊長類は齧歯類とは異なる細胞運命決定様式を有していることが示唆された(Ohgushi et al., Cell Reports, in press)。

また、1細胞CRISPRスクリーニングの実験データから遺伝子制御ネットワークを推定するための新規手法RENGEのさらなる改良を行い、ヒトiPS細胞を用いた実際のデータに適用しネットワーク推定を行った。その結果これまでに知られていない多能性ネットワークの新規コア因子を同定した。これらの結果は、本研究によって開発された実験・解析手法の有用性を示すものである。

さらに、得られたネットワークに対し、リンケージロジックを用いた数理解析を行い、鍵因子の探索を行うと共に複数の鍵因子の同時制御技術の開発を行った。様々な手法を検討した結果、アプタマーRNAを用いたCRISPRi/CRISPRaの同時制御技術の有用性を確認した。また、網羅的なCRISPRスクリーニングを内胚葉分化系に適応することで、内胚葉分化を正および負に制御する遺伝子を複数同定した。同定した26遺伝子をターゲットとしてperturb-seqを行い、制御情報を含むシーケンスデータを取得した。

§ 2. 研究実施体制

(1) 永樂グループ

- ① 研究代表者: 永樂 元次 (京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・網羅的スクリーニングによるヒト初期発生過程の細胞状態を制御する分子ネットワークの解明
 - ・ネットワーク構造に基づく分化ダイナミクスの解明と制御点の予測
 - ・自己組織化と局所制御を組み合わせたヒト初期発生過程の再現技術の開発

(2) 望月グループ

- ① 主たる共同研究者: 望月 敦史 (京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・ネットワーク構造に基づく分化ダイナミクスの解明と制御点の予測

(3) 遊佐グループ

- ① 主たる共同研究者: 遊佐 宏介 (京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・網羅的スクリーニングによるヒト初期発生過程の細胞状態を制御する分子ネットワークの解明
 - ・ネットワーク構造に基づく分化ダイナミクスの解明と制御点の予測
 - ・自己組織化と局所制御を組み合わせたヒト初期発生過程の再現技術の開発

【代表的な原著論文情報】

- 1) Using linkage logic theory to control dynamics of a gene regulatory network of a chordate embryo, *Sci Rep*, 11, 4001 (2021)
- 2) The gene regulatory system for specifying germ layers in early embryos of the simple chordate, *Sci Adv*, 7, eabf8210 (2021)