

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

2022 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  
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

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)  
富塚 一磨 (東京薬科大学 生命科学部 教授)  
水谷 英二 (筑波大学 医学医療系 准教授)

## 研究成果の概要

昨年度に引き続き、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) 組換え酵素を用いることなく、CHO 細胞中でマウス人工染色体上に Mb 単位のヒト染色体領域をクローニングすることが可能となった。
- 2) マウス ES 細胞中において、蛍光遺伝子とフローサイトメーターを活用した Traffic light システムを開発し、効率良く複数遺伝子を搭載するシステムを開発した。
- 3) CHO 細胞中において保持される人工染色体を蛍光標識してマイクロセルを選別し、これを卵子にインジェクションすることで、染色体導入マウスを作製することが可能となった。
- 4) 染色体受容細胞(HeLa)において、Rab4, 5 を強制発現する、あるいは cGAS-STING 阻害剤 RU. 521 を処理することにより染色体導入効率が上昇することを実証した。

### [2]ゲノム動作原理解明プロジェクト:

- 1) ヒト 21 番染色体導入ラットにおける、記憶学習能力低下のメカニズムを明らかにするために、ヒト 21 番染色体導入ラットの海馬を組織化学的に解析したところ、海馬歯状回において、成体新生ニューロンの成熟遅滞などが観察された。
- 2) マウス Y 染色体「最小化合成」について、Eif2s3y を含むベクターを搭載した MAC をマウス ES 細胞に導入した。さらに、Eif2s3y-MAC に精子成熟に寄与する Zfy2 を搭載した。

### [3]産業・医療応用プロジェクト:

- 1) ミニ化ヒト IgHD 合成配列(約 8kb)が挿入された改変 hIg-MAC を保持するキメラマウスにおける B 細胞解析により、IgHD 領域の 80%以上を占める非コード配列が、多様な IgD 断片の利用において必須でないことを示した。
- 2) SIM システムを活用して BAC レベルで HLA クラス I 領域を搭載した MAC を CHO 細胞中にて構築し、マウス ES 細胞に移入した。さらに子孫伝達マウスを作製し、発現解析を行ったところ、HLA-A, B, C いずれも発現が観察された。

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) Hiramuki Y, Abe S, Uno N, Kazuki K, Takata S, Miyamoto H, Takayama H, Morimoto K, Takehara S, Osaki M, Tanihata J, Takeda S, Tomizuka K, Oshimura M, **Kazuki Y\***. Full-length human dystrophin on human artificial chromosome compensates for mouse dystrophin deficiency in a Duchenne muscular dystrophy mouse model. Sci Rep. 2023 Mar 16;13(1):4360. doi: 10.1038/s41598-023-31481-3.
- 2) Satofuka H, Wang Y, Yamazaki K, Hamamichi S, Fukuhara T, Rafique A, Osako N, Kanazawa I, Endo T, Miyake N, Honma K, Nagashima Y, Hichiwa G, Shimoya K, Abe S, Moriwaki T, Murakami Y, Gao X, Kugoh H, Oshimura M, Ito Y, **Kazuki Y\***. Characterization of human anti-EpCAM antibodies for developing an antibody-drug

- conjugate. *Sci Rep.* 2023 Mar 14;13(1):4225. doi: 10.1038/s41598-023-31263-x.
- 3) Yamazaki K, Matsuo K, Okada A, Uno N, Suzuki T, Abe S, Hamamichi S, Kishima N, Togai S, Tomizuka K, **Kazuki Y\***. Simultaneous loading of PCR-based multiple fragments on mouse artificial chromosome vectors in DT40 cell for gene delivery. *Sci Rep.* 2022 Dec 16;12(1):21790. doi: 10.1038/s41598-022-25959-9.
- 4) Yamasaki Y, Moriwaki T, Ogata S, Ito S, Ohtsuki S, Minegishi G, Abe S, Ohta Y, Kazuki K, Kobayashi K, **Kazuki Y\***. Influence of MDR1 gene polymorphism (2677G>T) on expression and function of P-glycoprotein at the blood-brain barrier: utilizing novel P-glycoprotein humanized mice with mutation. *Pharmacogenet Genomics.* 2022 Oct 1;32(8):288-292. doi:10.1097/FPC.0000000000000481.
- 5) Kobayashi K, Deguchi T, Abe S, Kajitani N, Kazuki K, Takehara S, Nakamura K, Kurihara A, Oshimura M, **Kazuki Y\***. Analysis of in vitro and in vivo metabolism of zidovudine and gemfibrozil in trans-chromosomic mouse line expressing human UGT2 enzymes. *Pharmacol Res Perspect.* 2022 Dec;10(6):e01030. doi: 10.1002/prp2.1030.