

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

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

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)

大杉 美穂 (東京大学 大学院総合文化研究科 教授)

竹内 昌治 (神奈川県立産業技術総合研究所 人工細胞膜システムグループ
グループリーダー)

野澤 佳世 (東京工業大学 生命理工学院 准教授)

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。本年度は以下のような成果を得ることができた。

エンハンソームの機能解明(白髭、相澤、野澤グループ)。遺伝子発現の制御装置であるエンハンソーム中で、DNA モーターであるコヒーシン・Nipbl 複合体は RNA ポリメラーゼ II が伸長モードへと移行する際の抑制的な制御因子であることを明らかにした。このコヒーシン機能が損なわれると、生成される RNA の性状に異常が生じることを示す予備的な結果も得ている。コヒーシンがエンハンソームにリクルートされるメカニズムについても理解を深めることができた。転写装置におけるコヒーシン機能を分子レベルで理解するために、光ピンセットを用いた一分子操作実験系を構築し解析を開始した。また、コヒーシンとクロマチンの相互作用に関する構造生物学的解析も進めている。細胞核中のエンハンサーについては、ゲノム改変技術 UKiS を開発し論文として発表した。同法を活用して、TFF1 遺伝子エンハンサーの動作機序の理解を目的とした解析を実施しているところである。

長鎖 DNA を培養細胞に効率よく導入する技術の開発(白髭、大杉、竹内グループ)。リポソーム内に核を再現良く形成する技術を確立した。従来手法で作製するリポソーム内では核形成はほとんど観測されないが、実験条件を最適化し、低温下でカエル精子クロマチンおよびカエル卵抽出液を内封したリポソームを作製することで、再現性の高い核形成に成功した。本手法の詳細は特許出願を行った。また、人工細胞核を宿主細胞に届けるために重要となるリポソームと培養細胞の融合技術について、相補的 DNA を利用した手法の研究成果を論文として発表した。長鎖 DNA を酵母細胞内でプロタミンにより安定化する系についても開発を進めている。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Large-scale multi-omics analysis suggests specific roles for intragenic cohesin in transcriptional regulation”, *Nature Communications*, vol. 13, No. 1, page 3218, 2022
- 2) “Cohesin-dependent chromosome loop extrusion is limited by transcription and stalled replication forks”, *Science Advances*, vol. 8, No. 23, page eabn7063, 2022
- 3) “Biallelic and gene-wide genomic substitution for endogenous intron and retroelement mutagenesis in human cells”, *Nature Communications*, vol. 13, No. 1, page 4219, 2022
- 4) “Cryo-electron microscopy structure of the H3-H4 octasome: A nucleosome-like particle without histones H2A and H2B”, *Proc Natl Acad Sci U S A.*, vol. 119, No. 45, page e2206542119, 2022
- 5) “DNA-assisted selective electrofusion (DASE) of *Escherichia coli* and giant lipid vesicles”, *Nanoscale*, vol. 14, No. 38, pp. 14225-14267, 2022