

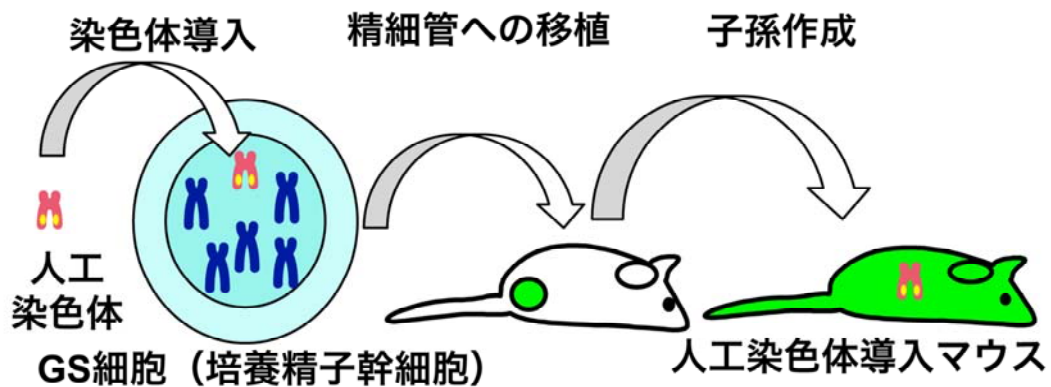
## 精子幹細胞を使った人工染色体導入マウスの作成

### —新規ヒト疾患モデル動物作成・男性不妊症治療法開発に期待—

#### 概要

篠原 隆司 京都大学大学院医学研究科教授、香月 康宏 鳥取大学染色体工学研究センター准教授、小倉 惇郎 理化学研究所バイオリソースセンター室長、鈴木 輝彦 東京都医学総合研究所主席研究員らの研究グループは、精子幹細胞への人工染色体導入法を開発し、人工染色体導入マウスの作成に成功しました。これまで一般的に用いられてきた受精卵やES細胞を用いた染色体導入に比べ、培養中の染色体異常が起きにくく、染色体導入マウスを効率的に作成することができます。ヒトの疾患を再現したモデル動物作成や、染色体を導入しての男性不妊症治療につながる成果です。

論文は9月22日、米国の科学誌 *Stem Cell Reports* に掲載されました。



#### 1. 背景

動物の遺伝子を組み替える際、通常はメス由来の受精卵やES細胞が用いられます。これらの細胞を用いた遺伝子導入法では数千-数万塩基対程度のDNAを導入して遺伝子改変動物を作成することができます。実際にマウスを中心とした多くの遺伝子改変個体が作成され、研究に用いられています。

しかし、受精卵への大きなサイズのDNA導入は現在も困難であり、染色体のように大きなDNAを受精卵へ導入してもうまくいかないのが現状です。一方、ES細胞を用いれば数千万塩基対もある人工染色体を導入できることが以前に報告されていましたが、ES細胞では長期培養の間に染色体異常が起こりやすく、人工染色体を導入しても脱落してしまう例が多いという問題がありました。またES細胞を初期胚に注入して出来るキメラマウス個体においても、ES細胞由来の生殖細胞で人工染色体が脱落しやすく、全身の細胞に人工染色体が入った染色体導入マウスの作成は効率の悪いものでした。

#### 2. 研究手法・成果

今回の研究では、精子幹細胞(Germline Stem Cellの略。以下、GS細胞)へ人工染色体を導入することでこれらの問題を克服しました。GS細胞は生殖細胞の中で唯一自己複製能力を持ち、個体の精子形成の源になります。つまり、自己複製能を持ち遺伝情報を次世代に伝えることができる点ではES細胞と同等

の能力を持つ細胞と言えます。私たちのグループが世界に先駆けて長期培養に成功した GS 細胞は試験管内では幹細胞として増殖しますが、不妊個体の精巣に移植すると精子形成を再開して精子を作ることができます。

私たちはこれまでの GS 細胞を用いた研究で、GS 細胞が ES 細胞よりも安定に染色体を維持することを見出していました。通常の ES 細胞は長期培養の間に 8, 11 番染色体のトリソミーを起こすために生殖細胞になる能力を失いますが、GS 細胞は 2 年間の長期培養を行っても安定に 40 本の染色体を維持するのみならず、正常な子孫を作成することができます。そこで私たちは GS 細胞における染色体の安定性は外来の人工染色体にも適用できるのではないかと考え、GS 細胞に人工染色体を導入しました。その結果、予想通り ES 細胞に導入した場合と比較して、より安定に長期にわたり人工染色体を維持することができました。

GS 細胞を用いた遺伝子改変のもう一つの特徴は遺伝子改変動物の作成スピードです。ES 細胞を用いた場合には遺伝子導入された ES 細胞を初期胚から一部の細胞に人工細胞を持ったキメラマウスを作成し、野生型マウスと交配させることで全身に人工染色体を持った遺伝子改変個体が出来上がります。この従来の方法と異なり、GS 細胞を用いた場合には受精の前の精子の段階で人工染色体を導入しているため、GS 細胞を移植された個体が受精した次の世代で全身に人工染色体を持つマウスを作成することができます。加えて、ES 細胞ではキメラマウスの生殖細胞の中に人工染色体があるとは限りませんが、GS 細胞では既に生殖細胞であるために確実に次世代の全身の細胞へと人工染色体を伝えることができます。

このように、精子幹細胞を用いた今回の方法の開発により ES 細胞を用いた場合と比較して、より安定かつ迅速に人工染色体導入マウスを作成することが可能になりました。

### 3. 波及効果、今後の予定

通常の遺伝子導入では宿主となる細胞の DNA の中に組み込まれてしまうため、組み込まれた場所によって遺伝子の発現が一定でなく、宿主の遺伝子を破壊するなどの問題があります。しかしながら、人工染色体はより大きなサイズの外来 DNA を発現できるのみならず、通常の遺伝子導入と異なり、1) 宿主細胞には組み込まれない、2) 一定のコピー数で安定に発現、3) 宿主細胞の生理的な発現を再現できるなどの特徴があります。

ES 細胞はマウスとラットではキメラ動物を作ることができますが、他の動物種由来の ES 細胞はキメラ個体を作ることができません。今後幅広い動物種の GS 細胞を用いることで人工染色体を用いた遺伝子改変動物作成が可能になり、よりヒトに近い疾患モデル動物の作成に繋がると予想されます。

また、染色体異常が原因の男性不妊症研究にも応用の可能性を持っています。今回の手法の確立により、男性不妊症の発生メカニズムの理解や新たな治療法の開発に役立つと期待されます。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は文部科学省新学術領域「生殖細胞のエピゲノムダイナミクスとその制御」、持田財団研究助成金、内藤祈念科学奨励金、地域イノベーション戦略支援プログラム、日本学術振興会科学研究費補助金の支援を受けました。

**<論文タイトルと著者>**

タイトル : Transfer of a mouse artificial chromosome into spermatogonial stem cells generates transchromosomic mice

著者 : Takashi Shinohara, Kanako Kazuki, Narumi Ogonuki, Hiroko Morimoto, Shogo Matoba, Kei Hiramatsu, Kazuhisa Honma, Teruhiko Suzuki, Takahiko Hara, Atsuo Ogura, Mitsuo Oshimura, Mito Kanatsu-Shinohara<sup>1,6</sup>, and Yasuhiro Kazuki<sup>2,4</sup>

掲載誌 : *Stem Cell Reports*