

流れ

ゲノム・エピゲノム編集マウスの国内作製拠点を目指して

堀居 拓郎¹

1 群馬県前橋市昭和町 3-39-15 群馬大学生体調節研究所附属生体情報ゲノムリソースセンター

文献情報

投稿履歴：

受付 令和5年3月24日
 修正 令和5年3月30日
 採択 令和5年3月30日

論文別刷請求先：

堀居拓郎
 〒371-8512 群馬県前橋市昭和町3-39-15
 群馬大学生体調節研究所附属生体情報ゲノムリソースセンター
 電話：027-220-8057
 E-mail: horii@gunma-u.ac.jp



はじめに

私の出身である京都大学農学部の家畜繁殖学研究室はマウス、ラット、ブタ、ウシなど様々な哺乳類を使って、体外受精、キメラ、クローン、遺伝子改変など発生工学の技術開発を行っている研究室でした。学位取得後、習得した技術を生かすために本学遺伝子実験施設（現 生体情報ゲノムリソースセンター）の畑田出穂先生のもとで研究をスタートし、2018年に同センター准教授を拝命いたしました。本稿では、これまでの私たちの取り組みと今後の展望について、ご紹介させていただきます。

ゲノム編集との出会い

2012年8月にUCバークレー校のジェニファー・ダウドナ博士とマックスプランク研究所のエマニュエル・シャルパンティエ博士らによる衝撃的な論文が Science 誌に掲載されました。¹ その論文では、化膿連鎖球菌から取り出した「Cas9」というDNA切断酵素および特定の塩基配列と結合する「ガイドRNA」を試験管内で二本鎖DNAと混合すると、狙った配列部分だけが切断されるというものでした。そして当時これを読んだ世界中の研究者が、この技術が培養細胞や個体の遺伝情報の切り貼り、つまりゲノム編集に応用できるに違いないと考えました。案の定、翌年の1月には培養細胞でゲノム編集に成功したという論文が発表さ

れたのを皮切りに、この分野の競争が激化しました。

私たちもこの競争に遅れまいと、2012年の冬から培養細胞やマウス個体への応用を開始しました。まず初めに、ゲノム編集技術を使って、疾患モデル細胞の樹立を試みました。ICF症候群という稀な先天性疾患がありますが、患者では染色体のセントロメア近傍でDNAの低メチル化が見られます。DNAメチル化酵素のDNMT3Bの変異が病因とされていましたが、ヒトの細胞では検証されていませんでした。そこで、ゲノム編集によりヒトiPS細胞のDNMT3Bの機能破壊（ノックアウト）を試みたところ、あっさりとノックアウト細胞を樹立することができました。実際に低メチル化が誘導されることも分かり、ゲノム編集の凄さを実感したのです。²

ゲノム編集マウス作製拠点を立ち上げ

培養細胞で培ったゲノム編集技術をマウス受精卵に応用することで、次に遺伝子機能を全身で破壊したノックアウトマウス³ や条件付きノックアウトマウス（組織・時間特異的に遺伝子を破壊）⁴ の開発を行い、独自技術の特許を取得することができました。こうした努力が認められたのか、私たちの研究室は2017年度よりAMEDが主催する創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム（BINDS）（代表：畑田出穂教授）に参画できることになりました。私たちに課せられた使命は、全国の研究者にゲノム編集マウスを作製

して分与するというものです。これまでも学内の研究者に細々とマウスを作製していたのですが、参画後は依頼が全国規模へと拡大したために一気に忙しくなりました。一方、良かった点として、全国の異分野の研究者と話す機会が増え、オンラインでしか会ったことのない依頼者から時折学会で声をかけていただけるようになりました。最終的に約4年半の支援期間中に78系統のゲノム編集マウスを全国の研究者に送り届けることができました。また、2022年度より2期目のBINDSにも採択していただき、新たに5年間支援を継続できることとなりました。

エピゲノム編集マウスの開発

さて、遺伝子の変異によって生じる先天的疾患以外に、遺伝子自体は正常にも関わらず、遺伝子発現が異常となり発症する病があります。これは、DNAメチル化など後天的な遺伝子修飾（エピジェネティクス）の異常によって生じると考えられており、肥満、糖尿病、がん、慢性炎症、依存症、インプリント疾患など多岐に渡ります。近年の網羅的DNAメチル化解析技術の発展により、これらの疾患では様々なDNAメチル化異常が生じていることが明らかとなってきましたが、どの異常が病因なのか検証することができませんでした。そこで私たちはゲノム編集技術の標的特異性に着目し、狙った領域のDNAメチル化修飾を書き換える独自のエピゲノム編集技術を開発しました。⁵ さらに、最近この技術を使って特定領域のDNAが低メチル状態になった疾患モデルマウスを作製し、病態を再現することに成功しています。⁶ この技術を使うことで、エピジェネティクス異常と病気の関係を直接明らかにすることができます。

今後の展望

遺伝子改変マウスの歴史はすでに30年におよび、これまで様々な疾患の原因遺伝子や治療方法が報告されてきまし

た。一方、DNAメチル化などエピジェネティクス異常に関わる病気の解明はまだこれからです。今後はエピゲノム編集マウスを使った病因の同定が必要になると考えられます。これからもゲノム編集とエピゲノム編集による疾患モデルマウス作製の拠点となって貢献できるよう頑張っ参りますので、どうかご支援下さいませよう宜しくお願い申し上げます。

おわりに

研究遂行にあたり、生体情報ゲノムリソースセンター畑田出穂教授、森田純代助教をはじめ多くの研究室スタッフに支えられてきたこと、この場を借りて御礼申し上げます。

参考文献

1. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 2012; 337: 816-821.
2. Horii T, Tamura D, Morita S, et al. Generation of an ICF syndrome model by efficient genome editing of human induced pluripotent stem cells using the CRISPR system. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 19774-19781.
3. Horii T, Arai Y, Yamazaki M, et al. Validation of microinjection methods for generating knockout mice by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Sci Rep* 2014; 4: 4513.
4. Horii T, Morita S, Kimura M, et al. Efficient generation of conditional knockout mice via sequential introduction of lox sites. *Sci Rep* 2017; 7: 7891.
5. Morita S, Noguchi H, Horii T, et al. Targeted DNA demethylation in vivo using dCas9-peptide repeat and scFv-TET1 catalytic domain fusions. *Nat Biotechnol* 2016; 34: 1060-1065.
6. Horii T, Morita S, Hino S, et al. Successful generation of epigenetic disease model mice by targeted demethylation of the epigenome. *Genome Biol* 2020; 21: 77.