

研究題目 造血系における脱分化現象検証のための 新規ゲノム編集マウス作製

研究組織

研究代表者：中西未央（千葉大学大学院医学研究院 講師）

共同研究者：竹本龍也（徳島大学先端酵素学研究所 教授）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

造血幹細胞と前駆細胞は炎症・再生時において各々の役割を劇的に変化させる。申請者はこの現象の基盤として、前駆細胞から幹細胞への脱分化を介したメカニズムがあるのではないかと考えた。実際に *ex vivo* 培養系をもちいた予備的な実験により、特定の造血前駆細胞が幹細胞へと脱分化する能力があることを示唆する結果を得た。そこで本研究ではこの脱分化現象を生体内において検証するために、ある時点における造血前駆細胞とその由来細胞を特異的に標識するレポーターマウスをゲノム編集技術をもちいて作製することを目的とした。

[1-2] 研究の方法・経過

造血前駆細胞を特異的に標識するのに好適な遺伝子を同定するために、申請者はまず造血幹細胞および異なる分化傾向を示す4種類の造血前駆細胞サブセット (MPP1, MPP2, MPP3, MPP4) の1細胞トランスクリプトームデータをもちいた独自の解析をおこなった。その結果、既に造血幹細胞および前駆細胞のフローサイトメトリーによる分離にもちいられてきたCD48に加えて2種類の新規候補遺伝子を同定した。次にこのうち1遺伝子をターゲットとしたノックインレポーターマウスを得るため、ターゲティングベクターのデザイン・作製およびCRISPR/Cas9システムをもちいたノックインマウス作製を本研究の共同研究先である竹本龍也教授に依頼した。竹本教授は(1)当該遺伝子の stop codon の直前に T2A-CreER を挿入したノックインベクターの設計および作製、(2)翻

訳終了点をターゲットとした guide RNA の設計・作製、マウス受精卵への Cas9 タンパク質および guide RNA のインジェクションによるゲノム編集をおこない、F1 マウス凍結胚を得た。その後、研究代表者（中西）所属先に凍結胚を移送したが、この際、研究代表者の研究環境上の事由により凍結胚移送と融解・個体作製が数ヶ月遅延したが、最終的に研究期間終了間際（2023年3月）に当該マウス凍結胚を移送し、現在千葉大学バイオメディカル研究センターにおいて融解・個体作製が進行中である。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

本共同研究では独自の1細胞トランスクリプトームデータ解析により、造血前駆細胞の標識に有用と予想される特異的マーカー遺伝子を同定した。そして任意の時点における造血前駆細胞を標識するため薬剤誘導型のレポーターノックインマウスを作製し、生体内における造血前駆細胞由来細胞の追跡をおこなうためのモデルを得た。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本共同研究により作製されたマウスモデルをもちいて今後、未知の脱分化現象の検証およびその炎症・老化等との関わりが明らかになる事が期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表
なし

[3-2]学会発表

1) Mio Nakanishi. Homeostasis of stem cell populations maintained by rare de-differentiating subsets. The 59th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, on-line, 2022年3月19日.

2) 中西未央. Plasticity of lineage-restricted progenitors: potential key mechanism underlying homeostasis, regeneration, and ageing of the somatic stem cells. 第55回日本発生生物学会, 金沢, 2022年6月3日.

[3-3]成果資料等

なし

【4】今後の課題等

技術的課題として、作製したレポーターマウスをもちいた造血幹細胞・前駆細胞分離の正確性をフローサイトメトリー解析・骨髄移植アッセイにより早急に確認する必要がある。

本共同研究では当初の目的であるレポーターマウス作製について、研究期間の半ばにはF1まで得られた。当初の予定を上回る迅速なマウス作出に御尽力いただいた共同研究者の竹本教授に深い感謝を表したい。