

「次世代合成生物基盤」プロジェクト

プロジェクトリーダー 相澤 康則

【基本構想】

本プロジェクトでは、当グループが開発しているゲノムを大規模に構築する技術群を活用し、創薬分野でのブレークスルー創出を支援するハードとソフトの研究開発基盤を作り上げる。具体的には、戦略シブ育成事業の成果である神経変性疾患モデル iPS 細胞群を活用して同疾患の発症メカニズムの詳細解明と、同疾患の治療法開発に資する医学応用研究を進め、さらに感染症対策のためのウイルスゲノム構築スキームの開発を模索しつつ、多くの人々の健康寿命を脅かしているガンに対する創薬研究技術基盤の構築に注力している。「がんは、遺伝子変異の蓄積によって発症進行する」という本疾患研究分野における常識への理解をより体系的に深めるために、同一ヒト細胞のゲノムに2種類のがん関連変異を人為的に導入し、1種類の変異のみと比べたときに、変異の相乗効果が起こるかどうかを調べている。対象としている変異は約300種類であり、これらのうちどの変異を2つずつ同時に存在させたときに、ガン化に特徴的な細胞表現形が発生するかを網羅的に探索する。本研究で作り上げられていく「がん関連変異を網羅的にかつ体系的に人工導入した約1万種類の細胞コレクション」や、これら細胞を解析するために本年度導入した自動細胞評価システムは、今後のがん研究分野において貴重なリソースとなる。以上、神経変性疾患やがんに関する創薬研究基盤を殿町で拠点化することで、国内外の研究機関や企業との連携を拡げ、人材と資金を神奈川に呼び込むことを目指す。

1. 2023 年度の研究目的

プロジェクト1年目となる2023年度では、5つの項目について以下のように目標を設定して研究を実施した。

（1）ガン抑制遺伝子の両アレル欠損 iPS 細胞株ライブラリーの作成

抽出された癌組織のゲノムを解析すると、1つの遺伝子の変異ではなく、複数遺伝子での変異が認められることが多く、複数変異の蓄積によってガン化が進行するというモデルは30年以上前から提唱され現在定着している。本研究ではこのモデルをより体系的に理解し、ガン治療への貢献を目指して、「どのような遺伝子変異がよりガン化を促進するのか？」という問いに答えるための研究を進めている。

本項目では、米国 NIH 主導の研究によって明らかになっている「ガンで高頻度変異を受けているヒト遺伝子トップ30（右表）」に含まれる21種類のガン抑制遺伝子あるいはガン抑制遺伝子候補を対象にし、これら遺伝子を両アレルから欠損した iPS 細胞株（癌モデル iPS 細胞株）の作成を進めている。具体的には、日本人由来 iPS 細胞株（585A1 株）に対して、これら21種類の遺伝子領域をそれぞれ両アレルで完全に欠損する。この結果、1つのガン抑制遺伝子が2コピーとも完全に欠損している iPS 細胞株が合計で21種類得られることになる。これら21種類の細胞株は全て、同一の iPS 株から作られることから、欠損部位以外のゲノム領域は完全に同じであるため、21種類の欠損株と、元の iPS 細胞株を比較しながら

ガンで高頻度変異を受けている遺伝子トップ30
(NIH the Cancer Genome Atlasのデータを独自に再解析)

遺伝子名 (ガンにて変異が多い順にランキング)	原ガン or ガン抑制遺伝子	関連パスウェイ	変異が見られたガン臓器 タイプの数 (合計33)	遺伝子領域全長 (kbp)
1. TP53	ガン抑制遺伝子	Genome integrity	27	19.1
2. PIK3CA	原ガン遺伝子	PI3K signaling	19	91.7
3. KRAS	原ガン遺伝子	MAPK signaling	17	45.7
4. PTEN	ガン抑制遺伝子	PI3K signaling	16	108.3
5. ARID1A	ガン抑制遺伝子	Chromatin SWI/ SNF complex	15	86.1
6. RB1	ガン抑制遺伝子	Cell cycle	14	178.1
7. CTNND1	ガン抑制遺伝子	Wnt/B-catenin signaling	12	57.7
8. FBXW7	両方の可能性あり	Protein homeostasis/ ubiquitination	11	215.5
9. NRAS	原ガン遺伝子	MAPK signaling	11	12.3
10. CDKN2A	ガン抑制遺伝子	Cell cycle	10	26.6
11. HRAS	原ガン遺伝子	MAPK signaling	9	3.3
12. NF1	ガン抑制遺伝子	MAPK signaling	9	282.7
13. IDH1	原ガン遺伝子	Metabolism	8	18.8
14. KMT2D	ガン抑制遺伝子	Chromatin histone modifiers	8	41.8
15. NFE2L2	原ガン遺伝子	Transcription factor	8	162.4
16. BAP1	ガン抑制遺伝子	Protein homeostasis/ubiquitination	7	9
17. BRAF	原ガン遺伝子	MAPK signaling	7	194.3
18. ERBB2	原ガン遺伝子	RTK signaling	7	28.6
19. KDM6A	ガン抑制遺伝子	Histone modification	7	239.6
20. AKT1	原ガン遺伝子	PI3K signaling	6	26.4
21. ARID2	ガン抑制遺伝子	Chromatin SWI/ SNF complex	6	178.3
22. EP300	ガン抑制遺伝子	Chromatin histone modifiers	6	87.5
23. FAT1	ガン抑制遺伝子	Other signaling	6	136
24. NOTCH1	ガン抑制遺伝子	NOTCH signaling	6	51.6
25. PIK3R1	両方の可能性あり	PI3K signaling	6	86.1
26. SETD2	ガン抑制遺伝子	Histone modification	6	147.7
27. SMAD4	ガン抑制遺伝子	TGFβ signaling	6	55.4
28. ATM	ガン抑制遺伝子	Genome integrity	5	146
29. ATRX	ガン抑制遺伝子	Chromatin SWI/ SNF complex	5	281.3
30. CASP8	ガン抑制遺伝子	Apoptosis	5	54.1

様々な細胞機能評価実験を実施することで、各ガン抑制遺伝子の単独欠損の影響を極めて正確に評価できるわけである。なお、これらガン抑制遺伝子の中には、全長が30万塩基対もの長い遺伝子も含まれており、定法ではその全長両アリル欠損は技術的に困難であるが、我々が戦略的シーズ育成事業でiPS細胞用に改良したUKiS法を用いれば問題なく欠損可能である。

（２）原ガン遺伝子変異体（ガン遺伝子）の過剰発現プラズミドライブラリーの作製

本項目では「ガンで高頻度変異を受けているヒト遺伝子トップ30」のうち、11種類の原ガン遺伝子あるいは原ガン遺伝子候補の変異体タンパク質をiPS細胞内で発現するためのベクターを作製する。NIH主導TCGAプロジェクトのデータベースを独自に解析したところ、11種類の原ガン遺伝子のエキソン領域において、腫瘍臓器で2回以上検出された変異が合計で290箇所存在することが分かっている。そこで本項目では、これら290の全ての変異を対象に、それらのうちいずれか一つの変異を含む原ガン遺伝子をiPS細胞内で過剰発現できるベクター合計290種類の作成を進めている。

（３）ヒト細胞培養解析自動システムの構築

本項目では、様々な癌特有の変異をもつiPS細胞株の表現型解析を自動高速に実施するためのシステムの構築を推し進めている（下図）。同システムでは、以下の3つの装置がプレート搬送ロボットアームと連動する：

- ① セルイメージャー：96ウェルプレート内の細胞を高速かつ自動で顕微鏡撮影する装置
 - ② プレートウォッシャー：培地交換を自動で行う装置
 - ③ 自動化対応細胞培養インキュベーター
- なお有望シーズ展開事業の初年である2024年度の目標

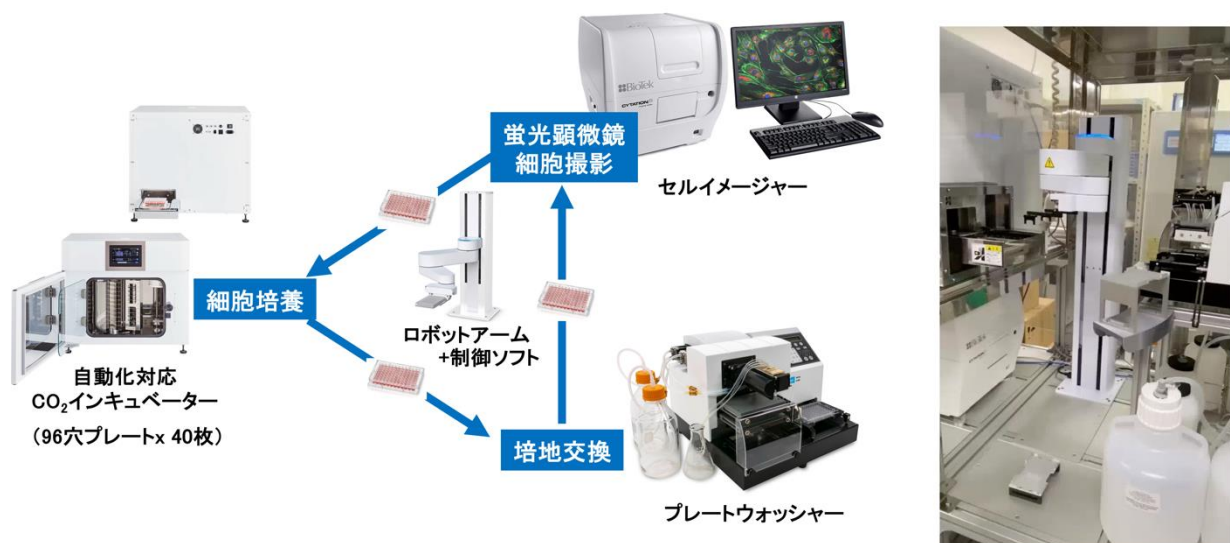


図1 ヒト細胞自動培養システム。左：システムの全体構成。細胞が播種された96穴プレートをインキュベーターに搭載すると、毎日1回自動でロボットアームがプレートを1枚ずつ取り出し、プレートウォッシャーに移動させると、そこでは古い培地が吸いとられ、新しい培地が加えられる。その後、プレートはセルイメージャーに移動され、96全てのウェル内にある細胞の顕微鏡画像がオートフォーカス機能にて撮影される。その後、プレートはインキュベーターに戻されると、別の96穴プレートに対して同じ工程で作業が自動的に繰り返される。右：殿町LiSEに導入されたシステム作動中の写真。

は、同システムの搬入設置であった。

（４）ハンチントン病モデルiPS細胞の応用性検証

戦略的シーズ育成事業で作成したハンチントン病モデルiPS細胞を活用し、同疾患の発病メカニズムの解明や薬剤開発のための研究を推進することが本項目の目的である。同神経変性疾患の原因遺伝子変異が特定されて久しいが、その変異が単独で細胞機能にもたらす影響を正確に調べる研究はこれまでなされていない。そこで我々はゲノム構築技術によって原因遺伝子変異だけを健常人由来iPS細胞のゲノムに導入した細胞株を作成した。この細胞株は世界で初めて作成されたもので貴重な研究リソースであり、上述の「原因遺伝子変異が単独で細胞機能にもたらす影響を正確に調べる」ためには理想的な細胞株となっている。本研究項目では、このヒトiPS細胞株を解析し、同疾患の発症メカニズムに関する新たな知見を得ることを目指しつつ、同疾患を専門とする外部研究機関との共同研究を推進することで同疾患に対する治療法の開発研究を進めることを目標としている。

（５）長鎖DNA合成による感染症対策技術の開発

本項目では、戦略的シーズ育成事業で磨いてきたコロナウイルスゲノムの合成技術を発展させ、次なる感染症パンデミックに備えることを目指している。具体的には、ウイルスゲノム配列取得からウイルスゲノム合成までを2週間で完結できるウイルスゲノム迅速構築系の確立を目指している。このために、昨年度までに確立しているコロナウイルスゲノムの合成プロトコルを見直し、時間短縮が可能な実験ステップ候補の洗い出しを行う。また、KISTEC次世代ライフサイエンスプロジェクトと協議し、同グループが注目しているノロウイルス粒子を高力価で産生するヒト細胞株の開発も目指している。

2. 2023 年度の研究成果

(1) ガン抑制遺伝子の両アリル欠損 iPS 細胞株ライブラリーの作成

欠損対象としている 21 種類のガン抑制遺伝子のうち、癌組織で最も変異が起きている上位 7 遺伝子に対する欠損 iPS 細胞株の作成が完了した。

(2) 原ガン遺伝子変異体（ガン遺伝子）の過剰発現プラズミドライブラリーの作製

これら項目の研究成果の詳細は、倉澤氏からの報告に譲り、ここではその特筆すべき内容だけを述べる。

当初計画はしていなかったガン遺伝子発現系の開発を本年度実施した。当初は、ガン遺伝子を常時発現するプロモーターで転写発現する計画であったが、実際に発現させると内在遺伝子の発現量の 1,000 倍以上の発現量になってしまうことが判明した。これでは実際の癌細胞における変異の効果だけを調べることができないため、薬剤誘導型プロモーターを採用すべく最適化を進め、後述のように薬剤の濃度依存的に、遺伝子の発現量を iPS 細胞内で調節することができるようになった。また、細胞に導入された多くのプラズミド分子からのガン遺伝子発現が導入直後から起きてしまうことも問題であることが本年度初旬の結果で明らかになった。これを改善すべく、プラズミド上のガン遺伝子は転写されず、ゲノムに組み込まれた段階で初めて転写が起こるような仕組みを iPS 細胞のゲノム上に導入した。以上 2 点のガン遺伝子発現系の改善によって、変異の相乗効果を正確に評価するための基盤が完成したことになる。

(3) ヒト細胞培養解析自動システムの構築

図 1 に示すシステム一式が殿町 LiSE 4 階に予定通り設置された。現在試運転中である。2025 年度末には実際にガンモデル細胞の表現型解析に活用を開始する予定である。

(4) ハンチントン病モデル iPS 細胞の応用性検証

戦略的シーズ育成事業で作成したハンチントン病

(HD) モデル細胞に関する論文が本年度公表された。本事業では同疾患モデル細胞を作成するためのゲノム改変基本技術をヒト大腸がん由来細胞 HCT116 を用いて確立している。この研究が、現在のヒト iPS 細胞をベースにした HD モデル細胞開発の基礎となっている。

ヒト iPS 細胞をベースに作成済みの HD モデル細胞に対する解析は本年度も継続して実施した。特にトランスクリプトームデータ解析を継続し、HD の原因とされているハンチンチン遺伝子の CAG リピート伸長の影響を直接受けている遺伝子の同定を進めた。その結果、現時点では 10 程度の遺伝子に絞り込むことができている。その中には、これまで HD 発症とは無関係だとされていた遺伝子も含まれていたことから、この再解析によって HD 発症の新たな分子機構が提案できる可能性がでてきた。現在、この新知見を含め、本 HD モデル iPS 細胞開発の研究成果公

表に向けた準備を進めている。

(5) 長鎖 DNA 合成による感染症対策技術の開発

コロナウイルスゲノムの合成プロトコールのなかで、時間短縮が可能な実験ステップ候補の洗い出しを進めた。枯草菌を用いることでウイルスゲノム断片を効率よく連結できる方法を戦略的シーズ育成事業期間内に見出しているが、枯草菌体内へのウイルスゲノム断片の導入ステップが一つに律速になっていることから、本年度はこの実験スキームの改良を進めた。またノロウイルス合成系の開発においては、合成対象とするノロウイルス種の選別を進めている。本項目は他と比較して遅れている一方で、上述のガンプロジェクトは共同研究の拡大も含めて大きな進展が見込まれ始めていることから、2025 年度には事業全体の見直しをする予定である。

(6) 長鎖 DNA 合成技術による人工酵母ゲノム染色体合成

戦略的シーズ育成事業期間中に培ってきた長鎖 DNA 合成技術を活用して、出芽酵母の 16 本の染色体の中で最も長い第 4 染色体（全長 145 万塩基対長）の合成に従事していたが、その成果が本年度、一流誌に論文発表された。真核生物に対するゲノム合成では世界初の研究であり、この論文発表に伴い国内でも複数のメディアに紹介された。本酵母ゲノム合成プロジェクトは、日米英中豪星の 6 カ国の研究チームによる国際コンソーシアムによって推進されており、我々は日本からの唯一の参画グループである。本研究も通して、本 KISTEC「次世代合成生物基盤」プロジェクトは、神奈川県と世界との間の合成生物学における橋渡しとなるべく今後とも国際プレゼンスを高めていくことを目指す。

がんモデル iPS 細胞ライブラリの構築

「次世代合成生物基盤」プロジェクト

倉澤 光

1. はじめに

がんは遺伝子変異に由来する複雑な疾患である。一般に、健常な細胞ががん化する過程では、複数の遺伝子変異を段階的に獲得している（「2 ヒット仮説」¹、「多段階発がん説」^{2,3}）。その組み合わせの結果として異常な増殖性や薬剤耐性、転移能などを獲得しており、この多様な細胞表現型ががん治療を困難にさせている⁴。2020 年における推定では、全世界で年間約 1930 万人が新たにがんと診断され、約 1000 万人ががんにより命を落としている⁵。また 2040 年には年間 2840 万人ががんを発症すると予測されており⁶、がんの分子機構の解明と、より効果的な治療法の開発が急務となっている。

近年では配列解析技術の発展に伴い、多数の患者由来がん組織に対するゲノム解析が精力的に進められており、The Cancer Genome Atlas (TCGA) プロジェクト⁶などを通じて、がんに関連する遺伝子変異のカatalog化が進展している。これらの研究により、①299 種の遺伝子がん化において主要な役割を果たすドライバー遺伝子であると推定され⁷、また②特定の遺伝子ペアで変異が頻発している⁸ことから、「変異の相乗効果」ががん化において重要な要素であると認識されつつある。

一方で、がん化に関与する遺伝子や注目すべき組み合わせが徐々に明らかになるものの、それらの変異が細胞表現型に与える具体的な影響や、複数の変異を獲得した場合の相乗効果に関する体系的理解はまだ十分とは言えない。このギャップは、既存のがんゲノムデータベースに対する解析だけでは限界があるためである。これには以下のような問題に起因している：

① ドライバー遺伝子の多様性

ドライバー遺伝子のアミノ酸変異の種類によって、がん化への寄与メカニズムが異なるため、各変異に実験的な検証が必要である。多くのドライバー遺伝子には複数の変異箇所が報告されており、それらを網羅するには膨大な数の変異体を作成し、詳細な表現型解析を行う必要がある。

② 患者由来組織の複雑性

患者由来組織は、がんの進化過程で選択された変異の集積体であり、ドライバー変異に加えて多数のパッセンジャー変異を含んでいる。これらの多様な変異から主要なドライバー変異やがん化初期の変異を特定し、その因果関係を明らかにすることは極めて困難である。そのため、実験を通じて各変異の機能を解明することが不可欠である。

③ 遺伝的背景の違い

患者ごとに異なる遺伝的背景や環境要因が存在するため、個々の変異や複数の変異が細胞表現型に与える純粋な影響を正確に評価することは困難である。したがって、同一の細胞株を基にしたがんモデル細胞ライブラリを作製し、これを用いて変異の影響を精密に検証することが重要である。

以上のように、がんゲノムデータベースの情報解析だけで解明できない課題を克服するためには、実験的なアプローチが不可欠であるといえる。我々は、これらの課題を解決するために、健常者由来の人工多能性幹細胞

(iPS 細胞)⁹にゲノム改変を施し、体系的に任意の遺伝子変異の影響を評価する実験系をデザインした。がん組織で頻発する変異を持つ遺伝子を 1 つずつ、2 つずつと段階的に導入し、その結果生じる細胞表現型を観察することで、変異の相乗効果と細胞表現型との因果関係を解明することを目指している。このようにして得られたがんモデル細胞は、同一の遺伝的背景を有するため、バックグラウンドノイズを排除した正確なデータを取得でき、変異が細胞表現型にもたらす純粋な効果をより精緻に見積もることが可能になると期待される。以下に詳細な実験デザインと、実装状況を報告していく。

2. 実験と結果

2-1. がん遺伝子ライブラリの構築

正常な細胞の成長と分裂は、増殖に関与する遺伝子（原がん遺伝子）が厳密に制御されることで維持されている。しかし、原がん遺伝子に変異が生じると、それががん遺伝子に変化し、恒常的な増殖シグナルを引き起こすことでがん化が進行する。本プロジェクトでは、複数のがん遺伝子を iPS 細胞に導入して人工的に発現させ、がん化した状態をモデル化することを目指している。

我々は、先行研究で報告された 299 種類のがんドライバー遺伝子の中から、特にがん組織で変異が頻発している 11 種類の原がん遺伝子を選定した。TCGA がんゲノムデータベースを参照し、変異箇所と頻度を解析して、計 290 種類の変異体ライブラリを構築することを目指した。表 1 には、現在の進捗状況として、健常者由来の iPS 細胞から 11 種類の原がん遺伝子の cDNA をクローニングし、部位特異的変異導入法を用いて作製したがん遺伝子の数を示している。目標の 290 種類のうち 114 個の変異体が完成している。

表 1. 原がん遺伝子変異体の作製状況

遺伝子	作製した数/目標数
PIK3CA	31完了/83
KRAS	23完了/36
FBXW7	10完了/36
NRAS	13完了/21
HRAS	3完了/14
IDH1	4完了/6
NFE2L2	7完了/22
BRAF	10完了/24
ERBB2	5完了/14
AKT1	1完了/4
PIK3R1	7完了/30
計114/290	

2-2. Landing pad 細胞株のデザインと作製

2-1 項では、外来遺伝子として導入するがん遺伝子ライブラリの構築の進捗状況を報告した。これらのがん遺伝子を iPS 細胞に導入し、安定的に発現させる工夫が必要である。本項ではその目標を達成するための実験デザインと実装状況を報告する。

外来遺伝子の安定した発現を実現するため、図 1 に示す「Landing pad」を用いたスキームを考案した（Landing pad とは、外来遺伝子が導入される場所を指す）。まず、任意の遺伝子座に 2 種類の Landing pad をノックインする。これらの Landing pad は、強力なプロモーター配列とポリ A 付加配列（pA）の間にインテグラーゼが認識する配列を持つ：1 つは PhiC31 インテグラーゼ（橙色・黄色）、もう 1 つは Bxb1 インテグラーゼ（緑色・黄緑色）により特異的に外来の環状 DNA を挿入することができる。次に、図 1 に示すように、がん遺伝子 1 と PhiC31 インテグラーゼ認識配列を持つプラスミド、およびがん遺伝子 2 と Bxb1 インテグラーゼ認識配列を持つプラスミドを用意し、それぞれのインテグラーゼを発現させるプラスミドと共導入することで、2 種類の Landing pad にがん遺伝子を挿入し、がん遺伝子を安定的に発現させることが可能となる。理論上、100 種類のがん遺伝子を用意すれば、最大で $(100 \times 99) \div 2 = 4950$ 種類の組み合わせのがんモデル細胞を作製できると考えられる。

このスキームに従い、CRISPR/Cas9 技術を用いて日本人健康者由来 iPS 細胞（585A1 株¹⁰⁾）に 2 種類の Landing pad をノックインした。得られた細胞群からクローン化を経て、期待される遺伝子型を有する細胞クローンを選抜した。続いて、この細胞クローンを用いて、外来遺伝子導入のテストを行った。具体的には青色蛍光タンパク質（BFP）をコードするプラスミドを挿入し、発現を確認した（図 2）。BFP コード配列を挿入する前の細胞

（BFP 非発現細胞）では青色の蛍光が観察できないのに対し、インテグラーゼを用いて BFP コード配列を挿入した細胞（BFP 発現細胞）では青色蛍光が観察された。このことから、図 1 に示したスキームの通り、任意の遺伝子を発現させるプラットフォーム細胞を作製できたことが分かった。

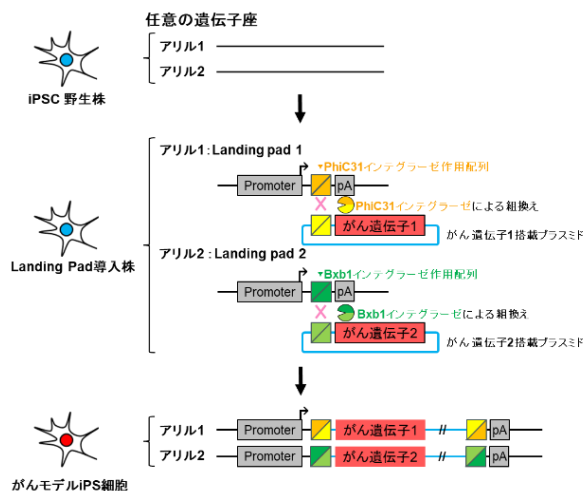


図 1. Landing pad 導入株のデザイン

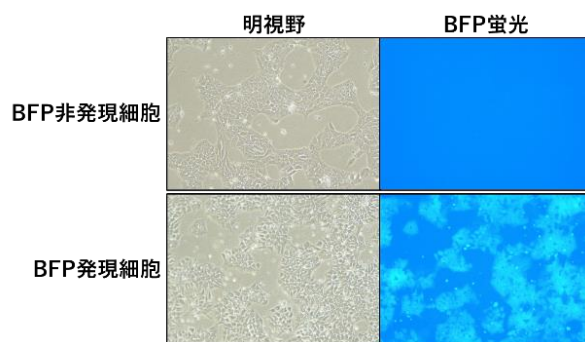


図 2. Landing pad に BFP コード配列を挿入した細胞の写真

2-3. 薬剤誘導型外来遺伝子発現系の設計

2-2 項では、Landing pad を導入した iPS 細胞株を作製し、任意の外来遺伝子を挿入して発現させることが可能であることを示した。本項では、Landing pad に挿入するプラスミドを改良し、薬剤添加によってがん遺伝子の発現レベルを調節できるシステムを構築したことを報告する。

この改良版では、実験者が任意のタイミングで、薬剤濃度に応じてがん遺伝子を発現させることが可能となり、がん遺伝子が細胞に与える影響をより精密に評価できるようにになると期待される。薬剤誘導系としては、広く使用されている Tet-ON システム¹¹⁾（図 3）を採用した。Tet-ON システムは、人工的な転写因子を利用し、ドキシサイクリン（Dox）に応答して人工プロモーターからの転写を活性化するシステムである。このシステムでは、Dox が存在しない場合、人工転写因子（Dox 応答転写因子）はプロモーターに結合しないが、Dox と結合することで構造が変化し、プロモーターに結合して転写を促進する。

市販の Tet-ON プラスミドを購入し、本プロジェクト用に改変した。発現誘導の検証として、2-2 項で用いたような BFP 発現プラスミドを構築した。このとき、Dox 応答転写因子の結合配列（TetO）を 4 つ、5 つ、6 つとタンデムに並べた人工プロモーターを作成した。

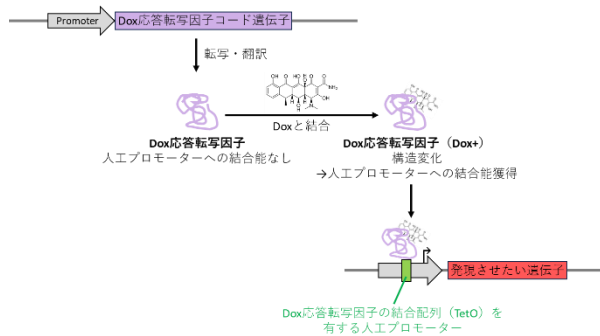


図 3. Tet-ON システムの概要

このプラスミドを Landing pad にインテグラーゼを用いて挿入し、Dox を 100 ng/mL または 1000 ng/mL の濃度で培地に添加し、BFP 発現を誘導した。48 時間後に細胞から RNA を抽出し、RT-qPCR で BFP の mRNA 発現量を比較した (図 4)。TetO 配列が 6 つのプロモーター (6xTetO-BFP) では、Dox 濃度 100 ng/mL および 1000 ng/mL の条件下で、それぞれ 4225 倍、10297 倍の発現誘導が起きていた。TetO 配列が少ないプロモーター (5xTetO-BFP および 4xTetO-BFP) では発現誘導の度合いを減少させることができ、1795 倍～5311 倍程度であった。このことから、TetO 配列の数や Dox 濃度を調整することで、がん遺伝子の発現量を精密に制御できる実験系が完成した。

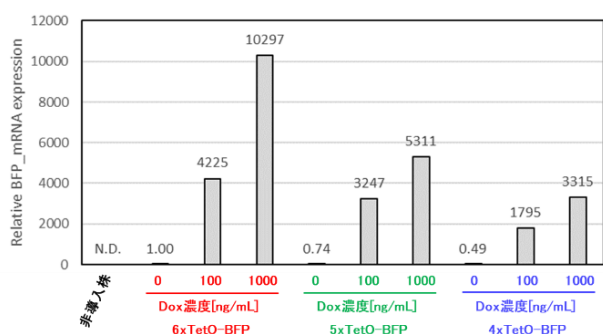


図 4. Dox 誘導実験の結果。Dox 非存在下 (0 ng/mL) における 6xTetO-BFP からの発現量を 1 としている。

3. 今後の展望

本研究期間において、がん iPS 細胞ライブラリの構築に向け、原がん遺伝子変異体の作製 (2-1 項) と、これらを導入するための細胞株 (2-2 項) および薬剤誘導システム (2-3 項) の開発に成功した。各項で示した通り、それぞれの開発は順調に進行し、基盤となる実験系の確立に至った。今後は、作成したがん遺伝子を順次 Landing pad 株に導入し、異なるがん遺伝子の組み合わせが細胞表現型に与える影響を調査する予定である。この研究により得られる知見は、がん患者が持つ特定の遺伝子変異プロファイルに基づいて最適な治療法を選択するテーラーメイド医療の発展に寄与すると期待される。また、本システムは創薬のツールとしても大きな可能性を秘めていると考えられる。がん遺伝子の組み合わせによって引き起こされる異常な細胞挙動を再現することで、新たな標的

を探索したり、既存薬の有効性を評価することに繋がるものと期待される。

【参考文献】

1. Knudson, A. G., Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 68, 820–823 (1971).
2. Fearon, E. R. & Vogelstein, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 61, 759–767 (1990).
3. Vogelstein, B. & Kinzler, K. W. Cancer genes and the pathways they control. Nat. Med. 10, 789–799 (2004).
4. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144, 646–674 (2011).
5. Sung, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J. Clin. 71, 209–249 (2021).
6. Cancer Genome Atlas Research Network et al. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project. Nat. Genet. 45, 1113–1120 (2013).
7. Bailey, M. H. et al. Comprehensive Characterization of Cancer Driver Genes and Mutations. Cell 173, 371–385.e18 (2018).
8. Sinkala, M. Mutational landscape of cancer-driver genes across human cancers. Sci. Rep. 13, 12742 (2023).
9. Takahashi, K. et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell 131, 861–872 (2007).
10. Okita, K. et al. An efficient nonviral method to generate integration-free human-induced pluripotent stem cells from cord blood and peripheral blood cells. Stem Cells 31, 458–466 (2013).
11. Gossen, M. & Bujard, H. Tight control of gene expression in mammalian cells by tetracycline-responsive promoters. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 89, 5547–5551 (1992).

業績

【原著論文】

(投稿掲載)

1. Tomoyuki Ohno, Takeshi Nakane, Taichi Akase, Hikaru Kurasawa, Yasunori Aizawa*, Development of an isogenic human cell trio that models polyglutamine disease. *Genes & Genetic Systems*, 98(4), 179-189, 2023
2. Weimin Zhang, Luciana Lazar-Stefanita, Hitoyoshi Yamashita, Michael J. Shen, Leslie A. Mitchell, Hikaru Kurasawa, Evgenii Lobzaev, Viola Fanfani, Max A.B. Haase, Xiaoji Sun, Qingwen Jiang, Gregory W. Goldberg, David M. Ichikawa, Stephanie L. Lauer, Laura H. McCulloch, Nicole Easo, S. Jiaming Lin, Brendan R. Camellato, Yinan Zhu, Jitong Cai, Zhuwei Xu, Yu Zhao, Maya Sacasa, Lisa Scheifele, Karen Zeller, Marcus B. Noyes, Joel S. Bader, Samuel Deutsch, Giovanni Stracquadanio, Yasunori Aizawa*, Junbiao Dai*, Jef D. Boeke* (*共同責任著者) Manipulating the 3D organization of the largest synthetic yeast chromosome *Molecular Cell*, 83(23), 4424-4437, 2023

【総説】

1. 相澤康則, 「高等生物のゲノム再構築を可能にする UKiS 法の開発」 *Bioscience & Industry*, Vo. 81, No. 5, 418-9 (2023)

【書籍】

1. 相澤康則, ThermoFisher 社の季刊誌 (NEXT) 66 号、「DNA 70th Anniversary 特別インタビュー」、2023 年 6 月
2. 遠藤智之、相澤康則、車兪澈「サイボーグ酵母で探る「生命とは何か」」、日経サイエンス 2024 年 3 月号

【口頭発表】

1. 発表者：相澤康則
題名：Sub-megabase and biallelic genome writing technology in human iPSC cells.
学会名：日本ゲノム編集学会第 8 回大会
発表年月：2023 年 6 月 7 日
開催地：タワーホテル船堀
2. 発表者：相澤康則
題名：Industrial potential of large-scale and precise genome engineering.
学会名：Link-J 主催シンポジウム
発表年月：2023 年 6 月 29 日
開催地：日本橋ライフサイエンスビルディング
3. 発表者：倉澤光、相澤康則
題名：ゲノム改変技術によるハンチントン病モデル iPS 細胞の作製

学会名：第 75 回日本生物工学会

発表年月：2023 年 9 月 3 日

開催地：名古屋大学

4. 発表者：金子真也、相澤康則
題名：枯草菌を用いた長鎖 DNA 構築法
学会名：第 75 回日本生物工学会
発表年月：2023 年 9 月 4 日
開催地：名古屋大学
5. 発表者：金子真也、相澤康則
題名：長鎖 DNA 構築法
学会名：第 95 回日本遺伝学会
発表年月：2023 年 9 月 7 日
開催地：くまもと県民交流館パレア
6. 発表者：倉澤光、相澤康則
題名：マーカーレスかつアリル特異的なゲノム改変技術の開発と、疾患モデル iPS 細胞の創出
学会名：第 95 回日本遺伝学会
発表年月：2023 年 9 月 7 日
開催地：くまもと県民交流館パレア
7. 発表者：倉澤光、大野知幸、相澤康則
題名：Human genome writing for understanding functionality of noncoding regions and disease-causing mutations
学会名：第 50 回国際核酸化学シンポジウム
発表年月：2023 年 11 月 1 日
開催地：宮崎市民プラザ
8. 発表者：相澤康則
題名：ゲノム構築技術がもたらす近未来
学会名：KISTEC Innovation Hub 2023
発表年月：2023 年 11 月 16 日
開催地：かながわサイエンスパーク
9. 発表者：相澤康則
題名：Development of HLA-, KIR- or LILR-null iPSC lines
学会名：Keystone Symposia, Emerging Cellular Therapies
発表年月：2024 年 1 月 22-25 日
開催地：Santa Fe Community Convention Center, USA
10. 発表者：相澤康則
題名：”独創的技術=ゲノム構築”で新たに切り拓きつつある評価機能
学会名：RINK FESTIVAL 2024 with LINK-J
発表年月：2024 年 2 月 16 日
開催地：Tokyo Midtown Yaesu
11. 発表者：相澤康則
題名：ゲノム構造機能相關
学会名：公開シンポジウム：Chemistry by Biology, Biology by Chemistry, 2024 ~ 生物有機化学の未来をすずかけ台で考える
発表年月：2024 年 2 月 20 日
開催地：東工大すずかけ台キャンパス