

# 多能性幹細胞における内在遺伝子の 転写の可視化技術

科学技術振興機構さきがけ研究者  
広島大学理学研究科 客員研究員  
落合 博

広島大学理学研究科 教授  
山本 卓

# 従来技術とその問題点： 転写可視化技術→RNA-FISH法

生細胞において特定遺伝子の転写をリアルタイムに可視化することにより、細胞が薬剤などの外部刺激からどの程度のタイムスケールで標的遺伝子の転写として応答しているのかを明らかにできる。また、哺乳類細胞では遺伝子は基本的に2コピーしかなく、さらに転写反応自体は基本的に不連続、かつ散発的で、同一環境中で細胞間の遺伝子発現量の多様性を生む原因となり得る。そのため、細胞個々の性質差を理解するために、簡便な転写のライブイメージング技術が求められている。

「転写の可視化技術」として、RNA-蛍光*in situ*ハイブリダイゼーション(FISH)法があるが、細胞を固定する必要があり、その動態を追うことが不可能であった(Levesque et al., *Nat Methods*, 2013)。

# 従来技術とその問題点： 転写可視化技術→MS2-MCPシステム

また、MS2-MCPシステムなどを利用した転写可視化技術は転写をリアルタイムにモニターできるが、目的遺伝子領域にMS2リピートと呼ばれるレポーター配列を事前に挿入しておく必要がある。これは、哺乳類培養細胞では一般的に困難であり、広く利用されるまでには至っていない(Lionnet *et al.*, *Nat Methods*, 2011)。

## 問題点：

- 特定DNA領域にMS2リピートを挿入する必要があること
- MCP-蛍光タンパク融合タンパク質遺伝子を安定的に発現させることが従来技術では困難だった

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 部位特異的DNA切断酵素を利用したゲノム編集技術 (Carroll, *Annu Rev Biochem*, 2014)を利用することにより、効率的にMS2リピートを挿入することが可能となった (Ochiai *et al.*, *Sci Rep*, 2014)
- さらに、*piggyBac*トランスポゾン(Yusa *et al.*, *PNAS*, 2009)を利用することで、可視化に必要なMCP-蛍光タンパク質融合遺伝子を効率的に導入することで、容易に転写の可視化が可能となった。

# 想定される用途

- 特定の遺伝子の転写制御の動態を詳細に解析するのに有用
- 当該細胞を被験物質に暴露することで、特定遺伝子の転写に及ぼす作用を調べることができる。
- 本技術はさまざまな細胞種に応用可能であり、各種薬剤が標的遺伝子の転写へ与える影響の大きさ、影響が出るまでのタイムスケールを調べることができる
  - 抗癌剤探索
  - 多能性維持関連因子の探索
  - 多能性獲得関連因子の探索
  - 分化誘導因子の探索

# 実用化に向けた課題

- 非常に転写量が低い遺伝子が標的の場合は可視化が難しい

## 企業への期待

- 各種スクリーニング過程で、特定遺伝子の転写動態を調べたいと考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 細胞の作製方法および該作製方法で作製された細胞
- 出願番号 : 特願2015-080648
- 出願人 : 国立大学法人広島大学
- 発明者 : 落合 博、山本 卓

# お問い合わせ先

科学技術振興機構さきがけ研究者  
広島大学大学院理学研究科  
客員研究員 落合 博

TEL 082-424 - 5568

FAX 082-424 - 5529

e-mail [ochiai@hiroshima-u.ac.jp](mailto:ochiai@hiroshima-u.ac.jp)