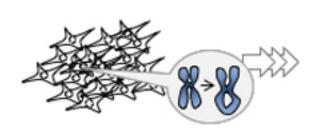
139 がん化の理解を目指した追跡可能な染色体融合系の開発

林 眞理

がん化のごく初期の過程である CRISIS(又はテロメアクライシス)期には、細胞の性質を決定する染色体が不安定化し、腫瘍の悪性化や多様化に多大な影響を及ぼす。その分子メカニズムは、染色体末端を保護するテロメアの機能不全による染色体融合に端を発すると考えられているが、不明な点が多い。そこで染色体融合の運命を 1 細胞レベルで詳細に解析することを目的とし、比較的安定に染色体を保持しているがん細胞株である HCT116 において、X 染色体の短椀のテロメア近傍領域に特殊な DNA カセットを挿入した。この DNA カセットは、スプライシング配列によって分断された蛍光タンパク質(mCitrine)を保持しており、姉妹染色分体間の融合がおきた時にのみ mCitrine を発現するように設計した。このカセット内の特定の配列を配列特異的エンドヌクレアーゼである CRISPR/Cas9 で切断すると、ある一定の頻度で mCitrine を発現する細胞が現れることを確認した。さらに mCitrine 陽性細胞の染色体を解析したところ、姉妹染色分体の融合が引き起こされていることを確認した。この系を用いた解析により、姉妹染色分体の融合は、発生直後の細胞周期には目立った影響を与えないことが示唆された。

追跡可能な姉妹染色分体融合誘導系の概念図



姉妹染色分体融合を一つの染色体で誘導する。 細胞は黄色になる。



黄色になった紐腔の運命を解析する。