

大規模ゲノム編集技術によるヒト染色体上でのエンハンサー機能解析法の確立

(東京工業大学) ○荒井 瑠星・大野 知幸・相澤 康則

Establishment of a strategy for identification of functional enhancers in chromatin context using the largescale genome editing (*Tokyo Institute of Technology*) ○Ryusei Arai, Tomoyuki Ohno, Yasunori Aizawa

Enhancers are the cis-regulatory genomic regions that activate gene expression. Some enhancers are well-studied and now known to be crucial for various biological functions such as development and cell differentiation, and mutations in some enhancers have been reported to cause diseases. However, our knowledge of human enhancers remains limited due to a lack of methodology for the identification of endogenous enhancers in the diploid genomes in living cells. Our group recently developed a method, enabling us for >10kb-scale and precise genome editing system. We here applied this method to the *TFF1* locus in human breast cancer-derived MCF-7 cells for enhancer screening to identify enhancer regions.

Keywords: *Genome Editing; Enhancer; Gene Expression Regulation; Human Genome*

エンハンサーは遺伝子発現を促進する DNA 配列であり、遺伝子発現の制御を通して生命機能に重要な役割を果たしている。エンハンサー部位の変異は、疾患の原因になることが報告されており^{1,2)}、エンハンサー部位の特定は重要である。近年の研究により、エンハンサーと推測される部位が数多く同定されている³⁾。しかし、これらが本当にエンハンサーであることを確認するためには、生細胞内の染色体上でこれら候補部位に変異を正確に導入し、その影響を検証することが必須である。本研究では当研究室が開発した大規模ゲノム編集技術 UKiS 法を活用して、ヒト染色体上のエンハンサー候補領域に正確に変異を導入する実験系を構築した。今回はヒト乳がん由来細胞 MCF-7 の *TFF1* 遺伝子座位を対象に UKiS 法を活用した。その結果、エンハンサー候補領域やそれら周辺領域に様々な変異を導入でき、染色体上での *TFF1* 遺伝子発現制御配列に関する新しい知見を得ることができた。

1) Sagai, T., Hosoya, M., Mizushina, Y., Tamura, M. & Shiroishi, T. Elimination of a long-range cis-regulatory module causes complete loss of limb-specific Shh expression and truncation of the mouse limb. *Development* 132, 797–803 (2005).

2) Sur, I. K. et al. Mice Lacking a Myc Enhancer That Includes Human SNP rs6983267 Are Resistant to Intestinal Tumors. *Science* (2012) doi:10.1126/science.1228606.

3) Dunham, I. et al. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 489, 57–74 (2012).