

| | | | |
|------------------|--|------|--------|
| 講座名（専門科目名） | 生体防御医学（遺伝子機能解析学） | 教授氏名 | 伊川 正人 |
| 学生への指導方針 | 研究テーマは、十分な討論の後、独創性、新規性を検証したうえで決定する。ゲノム編集・遺伝子改変動物の作製は体外受精・胚操作・ES細胞の培養・キメラ作製などの操作を必要とする実験があるため、受精・発生の基礎を十分に学んでもらう。またゲノム編集を含む遺伝子組換え技術一般についても基本技術として習得してもらえるように指導する。 | | |
| 学生に対する要望 | 実験の進行はその人の個性やペースに応じたもので結構であるが、何かを学びたいというだけでなく、何かを成し遂げたいと希望するような人材を求む。 | | |
| 問合せ先 | (Tel) 06-6879-8375 (Email) ikawasec@biken.osaka-u.ac.jp | 担当者 | 伊川（小西） |
| その他出願にあたっての注意事項等 | ラボ HP: https://egr.biken.osaka-u.ac.jp/ を確認のうえ、事前に担当者にメール連絡すること。 | | |

ヒトやマウスのゲノムプロジェクトが一応の完了を迎えた現在、人工的に遺伝子を操作した遺伝子組換え動物が、生物学の基礎研究や疾病の研究に重要な役割を果たすようになってきている。我々は個体レベルでの遺伝子機能解析ツールを開発するとともに、生殖医学の研究を行っている。

1. 個体レベルでの遺伝子機能解析法の開発

我々は世界に先駆けて発光オワンクラゲの GFP 遺伝子を組み込んだトランスジェニック (TG) マウスを作製した (図 1)。また ES 細胞での相同組換えを利用したノックアウト (KO) ノックイン (KI)、ウイルスベクター技術、CRISPR/Cas ゲノム編集技術などを組み合わせ、生殖細胞や初期胚への遺伝子導入および機能解析技術を多数、開発している (図 2)。



図 1) GFP を全身で発現するグリーンマウス。紫外線を当てると緑色蛍光を発する。 *FEBS Lett* 1995, 1997

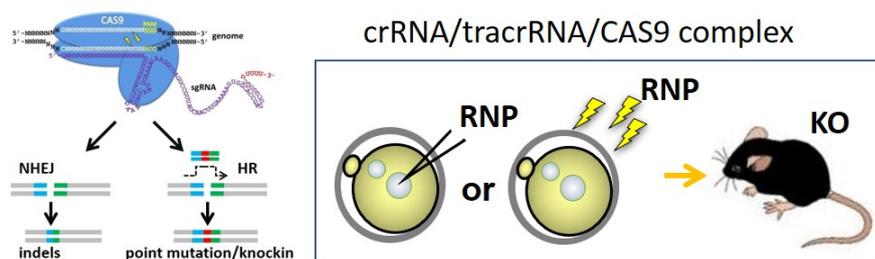


図 2) 任意の標的ゲノム領域に結合した gRNA が CAS9 蛋白質を誘導し 2 本鎖 DNA が切断され、DNA 修復機構によりゲノム編集が起こる(左)。CAS9/gRNA 発現プラスミドを前核期胚に注入すると、遺伝子改変マウスが誕生する(右)。 *Sci Rep* 2013, 2016, *PNAS* 2016, 2019, *Science* 2018, etc.

2. 生殖医学研究

遺伝子組換え動物を作製して解析を行うことで、受精や着床妊娠という現象を分子生物学的に解明しようとしている。我々は従来の ES 細胞を用いたジーンターゲットングや CRISPR/Cas ゲノム編集技術を活用して多数の KO マウスを作製・解析し、精巣特異的に発現する遺伝子の多くは必須でないことを明らかにした。同時に、妊孕性に必須な遺伝子に焦点を絞って解析を進め、精細胞特異的 ER シャペロン群 (*Clgn*, *Calr3*, *Pdilt*) が精子の卵管移行や透明帯結合を制御すること、精子膜タンパク質である *IZUMO1* が卵子との融合に必須であること、精子カルシニューリン (*PPP3CC/PPP3R2*) が精子の運動に必要なこと、なども明らかにしてきた (図 3, 4, *Nature* 1997, 2005, *Science* 2013, 2015, *PNAS* 2011a, 2012, 2013)。最近、精巣から分泌された *NELL2* が管腔を通過して精巣上体の分化に働くルミクラインシステムを分子レベルで明らかにすることにも成功した (*Science* 2020)。そのほか、ゲノム編集技術を活用することで、より多くの成果が挙げている (*PNAS* 2017, 2020a, 2020b, 2021a, 2021b, 2021c, 2022, 2023a, 2023b, *AJHG* 2020, *JCB* 2021, *Sci Adv* 2023, *Nat Commun* 2023, etc)。

なお、我々は、精子形成・機能だけでなく、卵形成・機能、着床・胎盤を対象も研究対象としている。CRISPR/Cas ゲノム編集だけでなく、レンチウイルスベクターや LNP (Lipid Nano Particle) を用いた初期胚遺伝子導入など、独自性の高い生殖医学研究を行っているので (*Nat Biotechnol* 2007, *PNAS* 2002a, 2002b, 2003, 2011b)、興味のある方は HP をご覧ください。

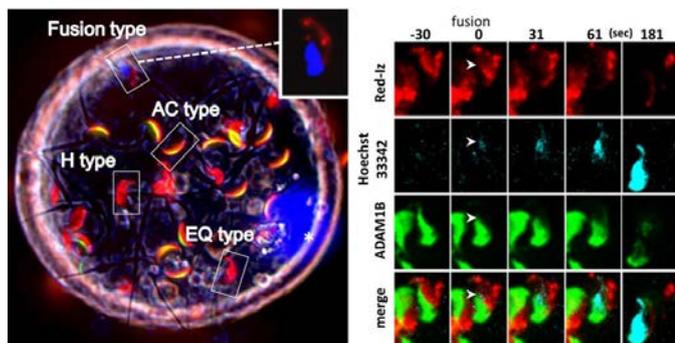


図3) *Izumo1* KO マウスの精子は透明帯を通過できるが、卵子に融合できない (*Nature* 2005)。IZUMO1 を蛍光タンパク質でラベルして、受精の観察に成功した (*JCS* 2012)。

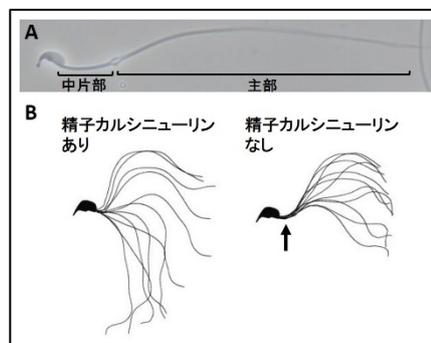


図4) 精子カルシニューリン(PPP3CC/PPP3R2) は精子の正常な運動に必要で、その阻害剤は、精子尻尾の中片部が屈曲できず不妊になる (*Science* 2015)。

【代表原著論文 5 編】

1. NELL2-mediated lumicrine signaling through OVCH2 is required for male fertility. Kiyozumi D, et al. *Science* 368:1132 (2020)
2. Sperm calcineurin inhibition prevents mouse fertility with implications for male contraceptive. Miyata H, et al. *Science* 350:442 (2015)
3. Complementation of placental defects and embryonic lethality by trophoblast-specific lentiviral gene transfer. Okada Y, et al. *Nat Biotechnol* 25:233 (2007)
4. The immunoglobulin superfamily protein Izumo is required for sperm to fuse with eggs. Inoue N, et al. *Nature* 434:234 (2005)
5. The putative chaperone calmeglin is required for sperm fertility. Ikawa M, et al. *Nature* 387:607 (1997)

【最近の主な論文 15 編】

6. A small secreted protein NICOL regulates lumicrine-mediated sperm maturation and male fertility. Kiyozumi D, et al. *Nat Commun* 14:2354 (2023)
7. TSKS localizes to nuage in spermatids and regulates cytoplasmic elimination during spermiation. Shimada K, et al. *PNAS* 120:e2221762120 (2023)
8. 1700029I15Rik orchestrates the biosynthesis of acrosomal membrane proteins required for sperm-egg interaction. Lu Y, et al. *PNAS* 120:e2207263120 (2023)
9. Testis-enriched ferlin, FER1L5, is required for Ca²⁺-activated acrosome reaction and male fertility. Morohoshi A, Miyata H, et al. *Sci Adv* 9:eade7607 (2023)
10. Human sperm TMEM95 binds eggs and facilitates membrane fusion. Tang S, Lu Y, et al. *PNAS* 119:e2207805119 (2022)
11. RanGTP and the actin cytoskeleton keep paternal and maternal chromosomes apart during fertilization. Mori M, et al. *J Cell Biol* 220:e202012001 (2021)
12. The conserved fertility factor SPACA4/Bouncer has divergent modes of action in vertebrate fertilization. Fujihara Y, Herberg S, et al. *PNAS* 118:e2108777118 (2021)
13. SPATA33 localizes calcineurin to the mitochondria and regulates sperm motility in mice. Miyata H, et al. *PNAS* 118:e2106673118 (2021)
14. ARMC12 regulates spatiotemporal mitochondrial dynamics during spermiogenesis and is required for male fertility. Shimada K, Park S, et al. *PNAS* 118:e2018355118 (2021)
15. Bi-allelic DNAH8 variants lead to multiple morphological abnormalities of the sperm flagella and primary male infertility. Liu C, et al. *AJHG* 107:30 (2020)
16. Sperm proteins SOF1, TMEM95, and SPACA6 are required for sperm-oocyte fusion in mice. Noda T, Lu Y, et al. *PNAS* 117:11493 (2020)
17. Identification of multiple male reproductive tract-specific proteins that regulate sperm migration through the oviduct in mice. Fujihara H, Noda T, Kobayashi K, et al. *PNAS* 116:18498 (2019)
18. TCTE1 is a conserved component of the dynein regulatory complex and is required for motility and metabolism in mouse spermatozoa. Castaneda JM, et al. *PNAS* 114:E5370 (2017)
19. Genome engineering uncovers 54 evolutionarily conserved and testis-enriched genes that are not required for male fertility in mice. Miyata H, Castaneda JM, Fujihara Y, Yu Z, et al. *PNAS* 113:7704 (2016)
20. MiR-200b and miR-429 Function in Mouse Ovulation and Are Essential for Female Fertility. Hasuwa H, et al. *Science* 341:71 (2013)