

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K11647

研究課題名(和文) デザインされた誘発Dicによる微小核/クロモトリプシス形成過程の解析

研究課題名(英文) Analysis of micronucleus/chromotripsis formation process by inducible Dic.

研究代表者

津山 尚宏 (Tsuyama, Naohiro)

広島大学・PSI GMP教育研究センター・主幹特任学術研究員

研究者番号：10335747

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：DNA二本鎖切断の誤修復によりランダムに生じる染色体異常のうち、転座(Tr)は娘細胞に分配されるが二動原体染色体(Dic)は間期に微小核を形成して自然免疫応答を惹起し、次の細胞周期にクロモトリプシス(染色体破碎)を形成する。染色体異常を解析するため、予めゲノム編集を行った細胞を使ったCre-loxやCRISPR-Cas9システムを用いて特定の染色体間にTrやDicの誘発を試みた。TrやDicの生成頻度は正常細胞では 10^{-6} 程度と大変低く、Dic解析のため多数の細胞を得ることは困難であった。Tr誘導iPS細胞は増やすことができるため遺伝子発現の変動解析を行い、変動遺伝子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

染色体異常解析は形態学的な解析が中心で、病気の原因となる特定の染色体異常以外は影響解析が十分に行われていない。本研究はランダムに生じる染色体異常のモデル系として、ゲノム編集を用いた配列特異的にデザインされたDSB誘導技術が、DSB修復を介した染色体異常機構の解明を効率よく進めるために有効であることがわかった。またランダムに生じる染色体転座が遺伝子発現に影響する可能性を示した。今後この解析法、およびこの解析から判明した機序を基盤に効率よくDicを誘導する技術を見出し、本研究では効率よく進められなかったDicとその転帰の解析を行うことが可能となった。

研究成果の概要(英文)：DNA double-strand break misrepair induces random chromosomal aberrations in cellular genome. Among aberrations, translocations (Tr) can be transduced to daughter cell genomes, while dicentric chromosomes (Dic) form micronuclei in interphase of daughter cells, triggering innate immune responses and chromotripsis in the following cell cycle. To analyze chromosomal aberrations, we tried to induce Tr and Dic between specific chromosomes using the Cre-lox and CRISPR-Cas9 systems with genome-edited cells. Tr and Dic are produced at a very low frequency of about 10^{-6} in normal cells, and it was difficult to obtain a large number of cells for Dic analysis. Since Tr induced iPS cells can be multiplied, we performed gene expression analysis and identified altered expression of variable genes.

研究分野：放射線生物学

キーワード：染色体異常 二動原体染色体 微小核 クロモトリプシス 染色体転座 ゲノム編集

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

電離放射線は細胞ゲノムに DNA 二本鎖切断(DSB)を誘発する。切断端が DSB 修復機構により再結合する際、一定の確率で本来の切断端とは異なる染色体末端の組み合わせで再結合が生じる。セントロメアを持つ断片と持たない断片が再結合した染色体転座(chromosome translocation, Tr)は、配列以外の構造は正常であるため娘細胞に受け継がれる。しかし、セントロメアを持つ断片同士および持たない断片同士が再結合した二動原体染色体(dicentric chromosome, DIC)および染色体断片は、染色体分配機構の機序に沿わないため不安定であると考えられる。

Dic や Tr の出現頻度は、染色体異常を用いた放射線線量評価の指標である。放射線発癌研究では、腫瘍を惹起する特定の転座に着目した解析が多く、ランダムに生じる Tr や細胞分裂増殖の過程で失われる Dic の癌化への関与は不明である。全ゲノム DNA 配列解析により染色体が複雑に融合したクロモトリプシスが腫瘍ゲノムに発見され、M 期の異常や Dic などの不安定型異常染色体が微小核の形成を介してクロモトリプシスを起こすと考えられるようになった。Dic は分裂期において娘細胞の両極から牽引され、核に取り込まれない微小核(micronucleus, MN)となる。MN 内のゲノム DNA は、細胞質内の DNA ウイルス応答機構を活性化するが、他方で MN 内の DNA は断片化され、次の G1 期に核内に取り込まれ斑状に融合した異常染色体となることがある。この異常染色体では、多数の遺伝子に欠損や増幅、遺伝子融合が起こるため、細胞癌化に必要な変異が起きる可能性が高くなる。放射線により頻度が上昇する様々な腫瘍でクロモトリプシスは検出されていることから、放射線誘発 Dic を端緒とした異常染色体の生成が、放射線発癌に寄与する可能性がある。この過程に、どんな因子が関与するか、この過程で誘導されたシグナルが細胞内・外へどんな影響を与えるか知ることは、放射線発癌機構を解析する上で重要である。加えて Tr の解析は腫瘍化に関与する Ph1 などの特定の異常の解析は進んでいるが、ランダムに生じる Tr についても、細胞に与える影響については未解明である。

2. 研究の目的

Tr や Dic はこれまで放射線損傷に特徴的なゲノム DNA の巨視的变化の指標として用いられてきたが、従来法では細胞の固定・染色が必要なランダムな異常は、分子解析に必要な大量の生細胞で追跡することは難しいため、ランダムな Tr の追跡および Dic が MN となり破砕・再構成されるクロモトリプシス過程までを精密に解析することは困難で、これらの転帰について解析を行った研究は殆どない。本研究では、特定の染色体間で Tr や Dic を人工的に誘導するために 2 つの染色体にゲノム編集を行って組換えに必要な配列をノックインし、同期的に誘発した Tr/Dic をモニターしながら、その転帰を継時的に定性・定量解析し、異常形成に関与する因子や惹起される細胞内・外シグナルを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

Tr/Dic の同期的誘導を可能にするため、11 番染色体 CCND1 遺伝子の 5'側領域、14 番染色体の IgH 鎖 E_H 領域の各々に特異的な gRNA 配列を CRISPRscan (<https://www.crisprscan.org>) を用いてデザインし、CRISPR/Cas9 により効率よく切断が起きることを確認した。また、それぞれのゲノム領域に相同組換えを用いて loxP 配列を導入するための鑄型となるターゲティングベクターを作成した。loxP 配列の方向性は、Dic および Tr が生成されるように 2 種のターゲティングベクターを作成した。これら IgH および CCND1 を標的とする CRISPR/Cas9 による特異的な切断をゲノム DNA 上に起こし、相同組換え修復によりそれぞれの座位にターゲティングベクターを介して loxP 配列をノックインした HEK293 細胞を作成した。この細胞を用いて Dic および Tr を誘導するため、GFP を共発現する Cre レコンビナーゼ発現ベクターを一過性に導入し、GFP(Cre)陽性細胞のセルソーター分離を行った。加えてハイグロマイシン耐性遺伝子を共発現する Cre 発現ベクターを作成し、細胞導入して薬剤選択し、安定発現細胞を単離した。Dic/Tr の誘導の確認は、分離した細胞のゲノム DNA を単離し、DSB 切断点の 5', 3'側に設定した Dic/Tr を特異的に検出するプライマーを用いたリアルタイム PCR により行った。

また Cre-loxP を使わず IgH/CCND1 に対する CRISPR/Cas9 のみを導入し、Tr および Dic を誘導する実験も行った。この実験では阻害剤処理や予め種々の遺伝子 mRNA に対する shRNA を導入して遺伝子発現をノックダウンした細胞株を調整し、CRISPR/Cas9 による Dic/Tr 誘導を行った。検出は DSB 切断点の 5', 3'側に設定した Dic/Tr を特異的に検出するプライマーを用いたリアルタイム PCR により行った。

Cre-loxP, あるいは CRISPR/Cas9 により Tr を誘導した細胞(HEK293, iPSC)については、細胞を純化し PCR や DNA 配列解析, FISH により loxP を介した染色体転座が起こっていることを確認した。

生じた Tr が細胞に与える影響を解析するため、t(11;14)をもつ対数増殖期の iPSC 細胞から RNA を回収し、Novogene 社への依頼分析でハイスループットシーケンサーを用いた RNAseq 解析を行った。アライメントしたデータは iDep1.0 を用いて遺伝子発現量に変化がある遺伝子

群を抽出した。

4. 研究成果

本研究では、既知の染色体転座座位であり多発性骨髄腫に特徴的な IgH enhancer-CCND1 遺伝子相互転座 t(11;14) (q13;q32)領域を標的とし、任意のタイミングで誘導可能な Cre-loxP を用いた Tr/Dic 誘導をまず試みた。IgH および CCND1 ゲノム DNA 配列特異的な CRISPR/Cas9 ベクターをデザインし、相同組換により loxP 配列を IgH および CCND1 に導入するためのターゲティングベクターとともにそれぞれ HEK293 および iPS 細胞に導入した。loxP の標的配列への導入確認はゲノム DNA を用いた PCR により行った。この細胞に Cre-EGFP を導入して一過性の EGFP 発現を示した細胞をセルソーターにより単離した。ゲノム DNA を用いた PCR により Tr/Dic の有無を調べたが、 10^6 個細胞に相当するゲノム DNA 3 μ g (total) を解析しても陽性シグナルが得られなかった。実験系を Cre-HygR 安定発現系に変更し、ハイグロマイシン薬剤耐性細胞を得てゲノム DNA を単離して PCR により Tr/Dic の解析を行ったところ、Tr のみを得ることができた (Fig.1, 2)。Tr 領域の DNA 配列を解析した所、loxP を介して IgH および CCND1 遺伝子ゲノム DNA が融合していることが確認できた。

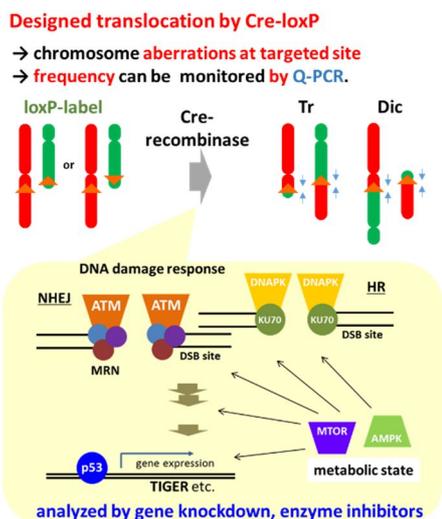


Fig.1 Experimental concept of Cre-loxP-mediated chromosome aberrations

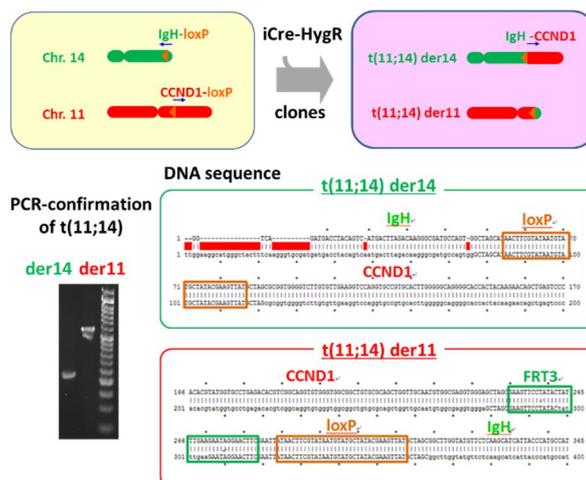


Fig2. Induction of t(11;14) in IgH-CCND1-loxP HEK293

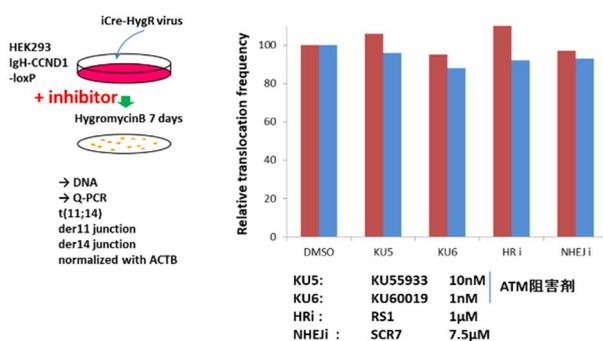


Fig3. Induction of t(11;14) in IgH-CCND1-loxP HEK293

や DSB 修復 (HR や NHEJ) は関与していないことが示された (Fig3)。

次に loxP を導入した HEK293 細胞に、ATM 阻害剤や相同組換阻害剤 (HRi)、非相同末端接合阻害剤 (NHEJi) を有効濃度で継続的に処理しながら Cre-Hyg をコードするレトロウイルスを感染させてハイグロマイシン耐性細胞を得た。ゲノム DNA を単離しリアルタイム PCR により Tr の有無を調べたが、阻害剤処理による相互転座のどちらの染色体にも発生頻度の違いは認められなかったことから Cre-loxP を介した DNA 組換による Tr には DSB 修復シグナル

Cre-loxP では Dic 細胞を得ることができなかったため、IgH および CCND1 遺伝子座への loxP 導入に用いた IgH-CCND1 特異的 CRISPR/Cas9 を用いて HEK293 細胞および iPS 細胞 (BiPSC13, MIB2-6) に DSB を誘導し、染色体異常の有無について Tr を特異的に検出するプライマーを用いたゲノム DNA-PCR により調べたところ、t(11;14) Tr 陽性細胞の存在を確認できた。Dic についてはシグナルは得られたものの結果に再現性がなかったため、まず Tr 解析を進めることとした。Tr 細胞をコロニー形成を行ってクローニングし、ゲノム DNA-PCR および t(11;14)特異的プローブを用いた FISH (緑/赤蛍光が重なり生じた黄色い点) により Tr が生じていることを確認した (Fig.4)。また Tr 接合配列には、CRISPR-Cas9 によるゲノム切断で生じる NHEJ による DSB 修復に特徴的な、塩基配列の欠損が認められた (data not shown)。

Designed DNA double strand breaks by CRISPR-Cas9

- chromosome aberrations at targeted site
- frequency can be monitored by Q-PCR.

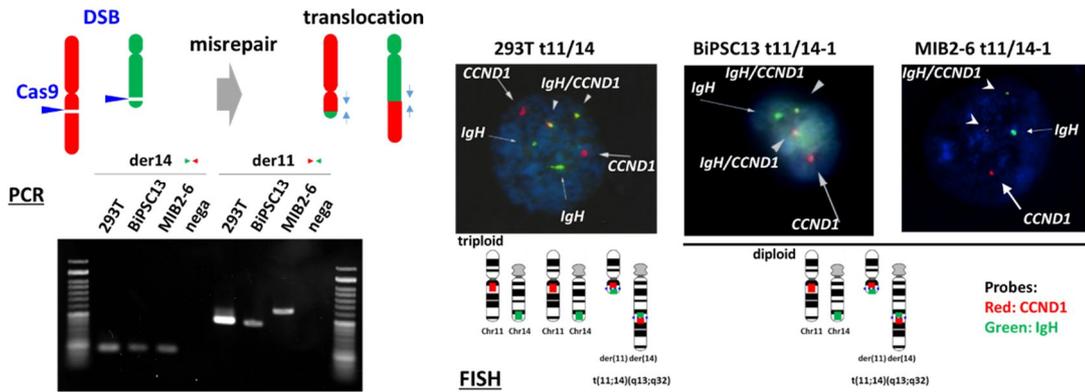
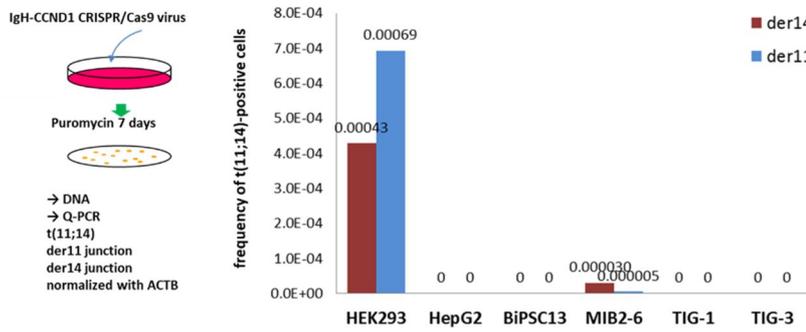


Fig4. Induction of t(11;14) by IgH-CCND1-CRISPR/Cas9 in HEK293

次に IgH-CCND1 特異的 CRISPR/Cas9 による t(11;14)誘導効率が細胞間に差があるかどうか確認するため、HEK293(副腎由来トランスフォーム細胞), HepG2(肝がん細胞), BiPSC13,



MIB2-6 (iPS 細胞), TIG-1, TIG-3 細胞(線維芽細胞)で Tr 誘導を行ったところ(感染効率はゲノムに組み込まれたウイルスゲノム量で補正)、HEK293 のみが 5×10^4 程度の高い効率を示したが、他の細胞株では Tr 効率は低かった (Fig.5)

Fig.5 Cellular difference of CRISPR-Cas9 mediated translocation frequency

高い Tr 誘導効率を示した HEK293 細胞に、ATM 阻害剤や相同組換え阻害剤(HRi)、非相同

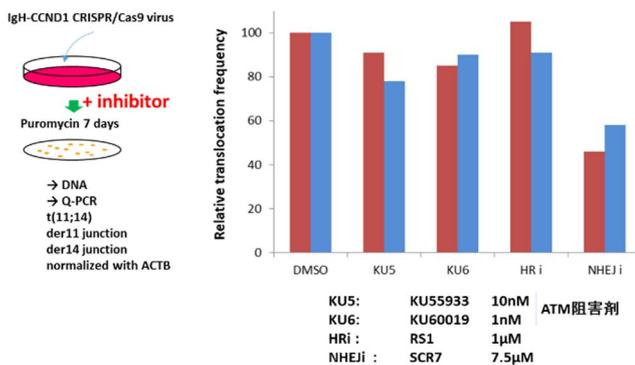


Fig6. Effects of inhibitors on induction of t(11;14) in HEK293

末端接合阻害剤(NHEJi)を処理しながら IgH-CCND1 特異的 CRISPR/Cas9 をコードするレトロウイルスを感染させて耐性細胞を得た。ゲノム DNA を単離しリアルタイム PCR により Tr の頻度を調べたところ、NHEJ 阻害剤処理により Tr 頻度が低下したことから、DSB 修復を介した Tr の誘導には NHEJ が関与していることが示された (Fig6)

機序解析を行うため、DSB シグナルに関与する遺伝子を特異的な shRNA 発現レトロウイルスベクターによりノックダウンした HEK293 細胞をそれぞれの遺伝子について作成し、RNA を単離して RT-PCR により発現抑制 (60-80%) を確認した。それぞれの遺伝子のノックダウン細胞について、IgH-CCND1-CRISPR/Cas9 レンチウイルスを導入して薬剤選択を行い、ピューロマイシン耐性細胞のゲノム DNA を回収して転座頻度をリアルタイム PCR により確認した。実験間でばらつきはあるものの、AMPK, MTOR, NBS1, TP53 遺伝子のノックダウンでは親株に比べて Tr 頻度の増加が認められたことから、これらの遺伝子の発現低下が Tr 頻度の増加の要因と考えられた。

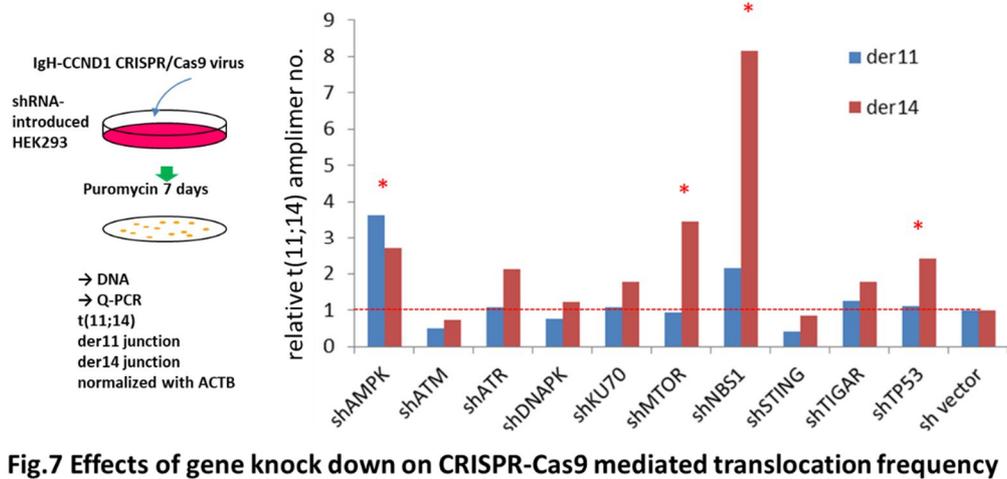


Fig.7 Effects of gene knock down on CRISPR-Cas9 mediated translocation frequency

ランダムに生じる Tr が細胞機能に与える影響を解析するため、iPS 細胞では発現しない IgH 遺伝子異常、すなわち t(11;14)を持つ未分化 iPS 細胞(CRISPR/Cas9 により誘導された BiPSC13 AX, MIB2-6 BG, Cre により誘導された MIB2-6 loxP tr)と、持たない未分化 iPS 細胞(BiPSC13, MIB2-6, MIB2-6 loxP)との間の遺伝子発現を RNAseq で比較した。6 つの細胞から ncRNA を含む約 19000 遺伝子の発現が検出され、遺伝子発現の主成分解析では t(11;14)細胞のみが集団を作らなかったことから、t(11;14)が遺伝子発現に大きな影響を与えていないことがわかった。Tr 細胞と正常細胞を比較したところ、Tr をもつ iPS 細胞で 25 遺伝子と 49 遺伝子が有意に増加・減少を示した。発現量の変化が大きな遺伝子については RT-Q-PCR により発現量の確認を行ったところ、RNAseq と同じ傾向が確認できた (Fig.8)。Tr の有無により発現差のあるこれらの遺伝子はゲノム全体にマッピングされた。加えて、t(11;14)(q13;q32)接合遺伝子座近傍の遺伝子発現は RNAseq やリアルタイム RT-PCR 結果では差が認められず、t(11;14)(q13;q32)接合遺伝子座の近傍の遺伝子発現は転座による影響がないことが確認された。Tr 細胞での変動が検出された遺伝子については、今後変動の原因解析を行う。

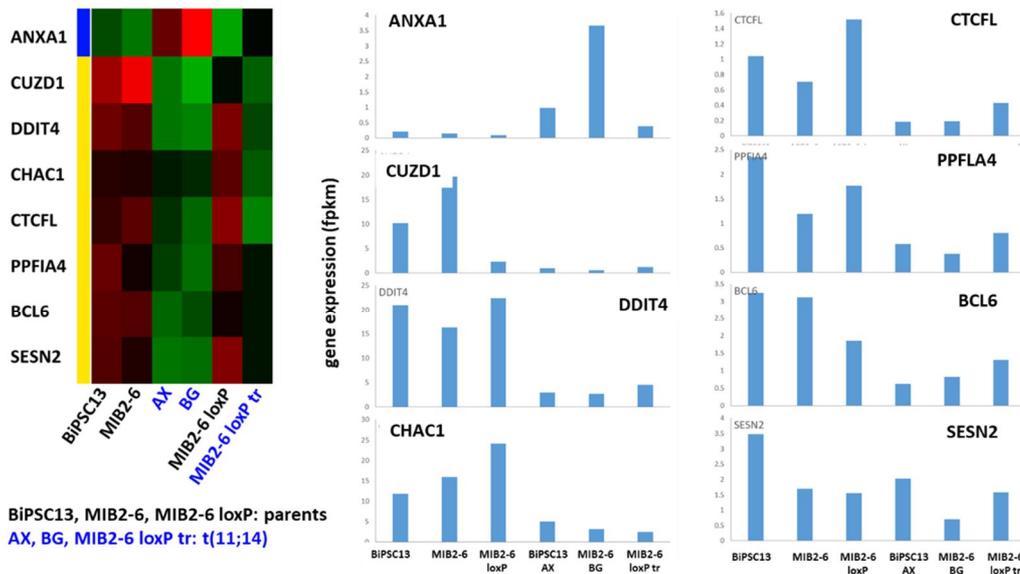


Fig.8 Differentially expressed genes between t(11;14)-positive iPS cells and their parents

以上のように本研究から、特定の染色体異常を誘導する配列特異的なデザインされた DSB 誘導技術が、DSB 修復を介した染色体異常機構の解明を効率よく進めるために有効であることがわかった。今後、染色体転座解析からわかった機序を基盤に、効率よく Dic を誘導する技術を見出し、本研究では効率よく進められなかった Dic 解析を行うことを目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Azami Y, Naohiro Tsuyama N, Abe Y, Sugai-Takahashi M, Kudo K, Ota A, Sivasundaram K, Muramatsu M, Shigemura T, Sasatani M, Hashimoto Y, Saji S, Kamiya K, Hanamura I, Ikezoe T, Onodera M, Sakai A.	4. 巻 11
2. 論文標題 Chromosomal translocation t(11;14) and p53 deletion induced by the CRISPR/Cas9 system in normal B cell-derived iPS cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5216-5228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-84628-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tsuyama N, Abe Y, Yanagi A, Yanai Y, Sugai M, Katafuchi A, Kawamura F, Kamiya K, Sakai A.	4. 巻 18
2. 論文標題 Induction of t(11;14) IgH enhancer/promoter-Cyclin D1 gene translocation using CRISPR/Cas9.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncology Letters. 18 : 275-282, 2019.	6. 最初と最後の頁 275-282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2019.10303	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Abe Y, Yoshida MA, Fujioka K, Kurosu Y, Ujiie R, Yanagi A, Tsuyama N, Miura T, Inaba T, Kamiya K, Sakai A	4. 巻 59
2. 論文標題 Dose-response curves for analyzing of dicentric chromosomes and chromosome translocation following doses of 1,000 mGy or less based on irradiated peripheral blood samples from 5 healthy individuals.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 35-42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrx052.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sakai A, Tsuyama N, Ohira T, Sugai-Takahashi M, Ohba T, Azami Y, Matsumoto Y, Iwadate Manabu, Suzuki S, Sato M, Hosoya M, Ishikawa T, Suzuki S.	4. 巻 13
2. 論文標題 No increase in translocated chromosomal aberrations, an indicator of ionizing radiation exposure, in childhood thyroid cancer in Fukushima Prefecture	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-41501-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Port M, Barquinero JF, Endesfelder D, Moquet J, Oestreicher U, Terzoudi G, Trompier F, Vral A, Abe Y, Ainsbury L, Alkebsi L, Amundson SA, Badie C, Baeyens A, Balajee AS, Balazs K, Barnard S, Bassinet C, Beaton-Green LA, Beinke C, Bobyk L, Brochard P, Brzoska K, Bucher M, Ciesielski B, Cuceu C, Discher M et al.	4. 巻 199
2. 論文標題 RENEB Inter-Laboratory Comparison 2021: Inter-Assay Comparison of Eight Dosimetry Assays.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Radiation Research	6. 最初と最後の頁 556-570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1667/RADE-22-00207.1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Endesfelder D, Oestreicher U, Bucher M, Beinke C, Siebenwirth C, Ainsbury E, Moquet J, Gruel G, Gregoire E, Martinez JS, Vral A, Baeyens A, Valente M, Montoro A, Terzoudi G, Triantopoulou S, Pantelias A, Monteiro Gil O, Prieto MJ, Domene MM, Zafiropoulos D, Barquinero JF, Pujol-Canadell M, Lumniczky K et al.	4. 巻 199
2. 論文標題 RENEB Inter-Laboratory Comparison 2021: The Dicentric Chromosome Assay.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Radiation Research	6. 最初と最後の頁 556-570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1667/RADE-22-00207.1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Barquinero JF, Abe Y, Aneva N, Endesfelder D, Georgieva D, Goh V, Gregoire E, Hristova R, Lee Y, Martinez JS, Meher PK, Miura T, Port M, Pujol-Canadell M, Prieto-Rodriguez MJ, Seong KM, Suto Y, Takebayashi K, Tsuyama N, Wojcik A, Yoon HJ, Abend M.	4. 巻 199
2. 論文標題 RENEB Inter-Laboratory Comparison 2021: The FISH-Based Translocation Assay.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Radiation Research	6. 最初と最後の頁 583-590
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1667/RADE-22-00203.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kato Y, Kudoh S, Sugiyama E, Sakane I, Tsuyama N, Toyo ' oka T, Todoroki K, Hajime Mizuno	4. 巻 2023
2. 論文標題 Influence of matrix effects by inorganic ions in single-cell direct mass spectrometry.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Medical mass spectrometry	6. 最初と最後の頁 43-52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.24508/mms.2023.06.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計20件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 8件）

1. 発表者名 Naohiro Tsuyama, Kenichi Kudo, Misaki Sugai Takahashi, Yusuke Azami, Kenji Kamiya, Akira Sakai.
2. 発表標題 Analysis of differential gene expression in t(11;14) carrying iPS cells induced by genome editing
3. 学会等名 第65回日本放射線影響学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naohiro Tsuyama, Yu Abe, Misaki Sugai Takahashi, Kenji Kamiya, Akira Sakai
2. 発表標題 Analysis of differential gene expression in t(11;14) carrying iPS cells induced by genome editing and Cre-loxP.
3. 学会等名 The 7th International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Naohiro Tsuyama, Yu Abe, Misaki Sugai-Takahashi, Kenichi Kudo, Yusuke Azami, Miwa Fukami, Tomisato Miura, Kenji Kamiya, Akira Sakai
2. 発表標題 Optimization of chromosome specimen preparation for biodosimetry using chromosome aberration frequency.
3. 学会等名 第64回日本放射線影響学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yusuke Azami, Naohiro Tsuyama, Yu Abe, Misaki Sugai-Takahashi, Ken-ichi Kudo, Miwa Fukami, Akinobu Ota, Karnan Sivasundaram, Moe Muramatsu, Tomonari Shigemura, Megumi Sasatani, Yuko Hashimoto, Shigehira Saji, Kenji Kamiya, Ichiro Hanamura, Takayuki Ikezoe, Masafumi Onodera, Akira Sakai
2. 発表標題 Study for exploring myeloma-initiating cell using normal B cell-derived iPS cells.
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Misaki Sugai, Naohiro Tsuyama, Yu Abe*, Yusuke Azami*, Akinobu Ota, Karnan Sivasundaram, Moe Muramatsu, Tomonari Shigemura, Megumi Sasatani, Yuko Hashimoto, Kenji Kamiya, Ichiro Hanamura, Takayuki Ikezoe, Masafumi Onodera, Akira Sakai.
2. 発表標題	Chromosomal translocation t(11;14) induced by Cre-loxP system in normal B cell-derived iPS cells.
3. 学会等名	第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Naohiro Tsuyama, Yu Abe, Misaki Sugai, Yusuke Azami, Ken-ichi Kudo, Kenji Kamiya, Akira Sakai.
2. 発表標題	Induction of sequence-specific chromosomal aberration using CRISPR/Cas9 and Cre-loxP.
3. 学会等名	第63回日本放射線影響学会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Yu Abe, Misaki Sugai, Naohiro Tsuyama, Ken-ichi Kudo, Yusuke Azami, Akira Sakai
2. 発表標題	Investigation of naturally occurring chromosome aberrations and individual radiosensitivity in Japanese.
3. 学会等名	第63回日本放射線影響学会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Misaki Sugai, Naohiro Tsuyama, Yu Abe, Yusuke Azami, Kenichi Kudo, Akinobu Ota, Karnan Sivasundaram, Moe Muramatsu, Tomonari Shigemura, Megumi Sasatani, Yuko Hashimoto, Kenji Kamiya, Ichiro Hanamura, Takayuki Ikezoe, Masafumi Onodera, Akira Sakai.
2. 発表標題	Chromosomal Translocation t(11;14) Induced by the Cre-loxP System in Normal B cell-derived iPS Cells for the Study of Myeloma-initiating Cells.
3. 学会等名	62th ASH Annual Meeting. (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 津山尚宏、阿部悠、柳亜紀、菅井美咲、神谷研二、坂井晃
2. 発表標題 CRISPR/Cas9を用いた染色体転座t(11;14) 誘導系の作製と染色体異常解析への応用
3. 学会等名 第4回放射線災害・医科学研究拠点カンファランス
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aki Yanagi, Naohiro Tsuyama, Misaki Sugai, Yu Abe, Yukari Yanai, Akinobu Ota, Karnan Sivasundaram, Lobna Alkebsi, Moe Muramatsu, Tomonari Shigemura, Megumi Sasatani, Yuko Hashimoto, Kenji Kamiya, Ichiro Hanamura, Takayuki Ikezoe, Masafumi Onodera, Akira Sakai
2. 発表標題 Chromosomal translocation t(11;14) and p53 deletion in B cell-derived iPS cells by CRISPR/Cas9.
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naohiro Tsuyama, Yu Abe, Aki Yanagi, Misaki Sugai, Kenji Kamiya, Akira Sakai
2. 発表標題 CRISPR/Cas9を用いた配列特異的DNA二本鎖切断と染色体異常の解析
3. 学会等名 第61回日本放射線影響学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yanagi A, Tsuyama N, Sugai M, Abe Y, Azami Y, Yanai Y, Ota A, Sivasundaram K, Muramatsu M, Shigemura T, Sasatani M, Hashimoto Y, Kamiya K, Hanamura I, Ikezoe T, Onodera M, Sakai A
2. 発表標題 Introduction of Chromosomal Translocation t(11; 14) and a p53 Deletion into Normal B Cell-derived iPSCs to Elucidate the Cellular Origin of Myeloma Cells.
3. 学会等名 61th ASH Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津山尚宏、阿部悠、柳亜紀、菅井美咲、神谷研二、坂井晃
2. 発表標題 CRISPR/Cas9を用いたt(11; 14)染色体転座誘発
3. 学会等名 第61回日本放射線影響学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yu Abe, Hideyoshi Noji, Misaki Sugai, Yumiko Kurosu, Takashi Ohba, Naohiro Tsuyama, Aki Yanagi, Yukari Yanai, Tetsuo Ishikawa, Tomisato Miura, Kenji Kamiya, Mitsuaki A Yoshida, Akira Sakai
2. 発表標題 Investigation of the cumulative number of chromosome aberrations induced by three consecutive CT scans.
3. 学会等名 American Association for Cancer Research Annual Meeting 2018. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yu Abe, Mitsuaki A Yoshida, Kurumi Fujioka, Yumiko Kurosu, Risa Ujiie, Aki Yanagi, Naohiro Tsuyama, Tomisato Miura, Toshiya Inaba, Kenji Kamiya, Akira Sakai
2. 発表標題 Construction of dose response curves for cytogenetic biodosimetry in the low dose range based on five persons.
3. 学会等名 EPRBioDose 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Abe Y, Noji H, Sugai M, Kurosu Y, Tsuyama N, Yanagi A, Yanai Y, Ohba T, Ishikawa T, Miura T, Kamiya K, Yoshida MA, Sakai A
2. 発表標題 Analysis of the number of chromosome aberrations induced by three consecutive CT examinations.
3. 学会等名 第61回日本放射線影響学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柳 亜希、津山尚宏、柳井祐佳里、阿部 悠、菅井美咲、太田明伸、シバスングラン カルナン、笹谷めぐみ、神谷研二、花村一朗、池添隆之、小野寺雅史、坂井 晃
2. 発表標題 ttempt to make abnormal B lymphocytes as myeloma-initiating cells from iPSCs.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yanagi A, Tsuyama N, Yanai Y, Abe Y, Sugai M, Ota A, Sivasundaram K, Shigemura T, Sasatani M, Kamiya K, Hanamura I, Ikezoe T, Onodera M, Sakai A
2. 発表標題 Attempt to prove the existence of abnormal B lymphocyte as myeloma-initiating cells from B cell-derived induced pluripotent stem cells.
3. 学会等名 60th ASH Annual Meeting. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yu Abe, Hideyoshi Noji, Misaki Sugai, Yumiko Kurosu, Naohiro Tsuyama, Aki Yanagi, Yukari Yanai, Takashi Ohba, Tetsuo Ishikawa, Tomisato Miura, Kenji Kamiya, Mitsuaki A. Yoshida, Akia Sakai
2. 発表標題 Analysis of the number of chromosome aberrations induced by three consecutive CT examinations.
3. 学会等名 放射線災害・医科学研究拠点 第3回国際シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naohiro Tsuyama, Yu Abe, Aki Yanagi, Misaki Sugai, Kenji Kamiya, Akira Sakai
2. 発表標題 Induction of t(11;14) IgH enhancer/promoter-cyclin D1 gene translocation using CRISPR/Cas9.
3. 学会等名 放射線災害・医科学研究拠点 第3回国際シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	阿部 悠 (Abe Yu) (00722472)	長崎大学・原爆後障害医療研究所・助教 (17301)	
研究分担者	柳 亜希 (Yanagi Aki) (60803525)	福島県立医科大学・医学部・助手 (21601)	
研究分担者	坂井 晃 (Sakai Akira) (70284221)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------