

11. 現在までの進捗状況

(区分)(3) やや遅れている。

(理由)

平成27年度には、私たちの先行研究で用いたNMD抑制エレメントを改良し(RNAのレベルで形成される高次構造をより強いものにした)、トラップ・ベクター内のNEOの下流に組み込み、マウスES細胞を用いて遺伝子トラップを実施した。その結果、NEO部分とトラップされた遺伝子の融合型mRNAのNMDが回避されていることを確認することができた。さらに、トラップされた遺伝子の中に、従来よりも高頻度にlncRNA遺伝子が含まれることを確認することができた。しかしながら、このNMD抑制エレメントの改良のステップに想定以上の時間を要してしまったため、補助事業期間の延長を申請し、承認された。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

<トラップされたlncRNA遺伝子の発現パターンの解析>

平成28年度には、完成した改良型ベクターを用いて重点的に遺伝子トラップを行い、トラップされたlncRNA遺伝子の発現パターンを解析する。既知遺伝子とは異なり、本研究で着目するlncRNA遺伝子には関連するESTが存在しないことも多く、米国NCBIのUniGeneデータベースなどを利用してマウス体内における発現パターンを完全に類推することは難しい。そのため、候補遺伝子ごとにPCR用プライマーを設計してRT-PCRを行い、発現部位を解析する必要がある。

<ES細胞クローンの選定とノックアウトマウスの作製>

トラップされたlncRNA遺伝子のうち、免疫系組織(胸腺、脾臓、リンパ節など)や神経系組織(脳や脊髄など)で特異的に発現するものを選別する。そして定法に従いノックアウトマウスを作製する。個体に免疫異常や行動異常などが観察される場合には、さらに詳細な解析を加える。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

平成27年度には、私たちの先行研究で用いたNMD抑制エレメントを改良し(RNAのレベルで形成される高次構造をより強いものにした)、トラップ・ベクター内のNEOの下流に組み込み、マウスES細胞を用いて遺伝子トラップを実施した。その結果、NEO部分とトラップされた遺伝子の融合型mRNAのNMDが回避されていることを確認することができた。さらに、トラップされた遺伝子の中に、従来よりも高頻度にlncRNA遺伝子が含まれることを確認することができた。しかしながら、このNMD抑制エレメントの改良のステップに想定以上の時間を要してしまったため、補助事業期間の延長を申請し、承認された。

(使用計画)

分子生物学試薬の購入に約200,000円、細胞培養用培地とウシ胎児血清の購入に約100,000円、各種抗体の購入に約200,000円、論文投稿諸費用のために約20,000円を要する。

(課題番号: 25290034)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(2 / 4)

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(0)件/うち査読付論文 計(0)件/うち国際共著論文 計(0)件/うちオープンアクセス 計(0)件

著者名		論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
オープンアクセス						

(学会発表) 計(1)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(1)件

発表者名		発表標題		
Atsushi Matsuba, Ryohei Kondo, Jie Bai, Kaito Tabata, Niluhputu Ika Mayasari, Phan Thi Thanh Huyen, Masashi Kawaichi, and Yasumasa Ishida		Random insertional mutagenesis of transcriptionally silent genes in mouse embryonic stem cells.		
学会等名	発表年月日	発表場所		
Conference on Transposition and Genome Engineering 2015(国際学会)	2015年11月17日～ 2015年11月20日	奈良春日野国際フォーラム「IRAKA」(奈良県奈良市)		

(図書) 計(0)件

著者名		出版社		
書名			発行年	総ページ数

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 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

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究: -

17. 備考

--