

平成 20 年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

14603

2. 研究機関名

奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名

特別研究促進費

4. 研究期間

平成 20 年度～平成 22 年度

5. 課題番号

20579002

6. 研究課題名

ゼノパス・トロピカリスにおける遺伝子トラップ法を用いた発生制御遺伝子の探索

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
10273856	<small>リガナ オギノ、ハジメ</small> 荻野 肇	バイオサイエンス研究科	准教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
	<small>リガナ</small>		
	<small>リガナ</small>		
	<small>リガナ</small>		
	<small>リガナ</small>		
	<small>リガナ</small>		

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600 字～800 字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600 字～800 字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

遺伝子トラップ法によるミュータント系統の作成

当初トラップベクターとしては、スプライシングアクセプター配列を連結した GFP 遺伝子を用いる予定であった。しかし、研究代表者及び米国バージニア大学の Grainger 研究室がおこなった予備実験から、スプライシング型ベクターはゲノム中の挿入先によっては強いバックグラウンド発現を示すことが明らかになった。このことと、サカナにおいて、スプライシング型ベクターよりも、エンハンサートラップベクター（基本プロモーター配列を連結した GFP 遺伝子）によってミュータジェネシスが成功していることを考え、新たにゼノパス用のエンハンサートラップベクターの構築をおこなった。

まずトロピカリスのゲノムDNAからhsp70遺伝子のプロモーター領域（-0.6～+1.0 kb）を単離した。このプロモーター領域を上流から少しずつ欠失させたものをGFP遺伝子に連結して、トランスジェニック解析をおこなったところ、-0.6 kbでは体全体でGFPが強く発現するが、-0.2 kbまで欠失させると発現がほぼ消失した。次にこの-0.2 kbのプロモーターにSix3遺伝子の前脳エンハンサーあるいはNkx2-5遺伝子の心臓エンハンサーを連結すると、GFPは前脳および心臓で強く発現した。これらの結果から、-0.2 kb領域をGFPに連結したものが、プロモーター自体のバックグラウンド発現が低く、かつ様々なエンハンサーによく応答し、トラップベクターに適していると考えられた。このトラップベクターを用いてスクリーニングをおこない、脳や脊髄、眼、あるいは体節でGFPを発現するものを合計20個体得た。現在スクリーニングを続けると同時に、これらトラップ個体（F0）を育ててF1を作成中である。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 判縦長横書 1 枚)を添付すること。

10. キーワード

(1) 分子生物学	(2) 発生・分化	(3) ゲノム
(4) 遺伝学	(5) 遺伝子	(6) 進化
(7) ツメガエル	(8)	

(裏面に続く)

## 11. 研究発表（平成20年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 1 ）件

著 者 名	論 文 標 題			
荻野 肇	Resources and transgenesis techniques for functional genomics in <i>Xenopus</i>			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁
<i>Development, Growth &amp; Differentiation</i>	有	51	2009	387-401

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

〔学会発表〕 計（ 2 ）件

発 表 者 名	発 表 標 題		
荻野 肇	<i>Xenopus tropicalis</i> を用いた研究の現在の状況と将来の方向性について		
学 会 等 名	発表年月日		発 表 場 所
第41回日本発生生物学会大会	2008, 5, 27		徳島市

発 表 者 名	発 表 標 題		
荻野 肇	Genome-wide analysis of vertebrate <i>cis</i> -regulatory elements in <i>Xenopus</i>		
学 会 等 名	発表年月日		発 表 場 所
The 16th CDB Meeting Cis-sequence Regulation and its Evolution	2008, 9, 29		神戸市

〔図 書〕 計（ 0 ）件

著 者 名	出 版 社		
書 名			総ページ数

## 12. 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

## 13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

<http://bsgcoe.naist.jp/special-grp03.html>