

平成23年度科学研究費助成事業（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

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 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 基盤研究(B) 4. 研究期間 平成21年度～平成23年度
5. 課題番号

2	1	3	1	0	1	2	8
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 NMD抑制に基づく新しい遺伝子破壊法をTリンパ球の研究に応用する
7. 研究代表者

研究者番号								研究代表者名		所属部局名		職名
1	0	2	2	1	7	5	6	イシダ 石田	ヤスマサ 靖雅	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

9. 研究実績の概要

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。

従来のポリA・トラップ法では、確かに非発現遺伝子をトラップすることはできたが、ベクターが遺伝子の最後のイントロンに挿入された細胞のみが繰り返し単離された。しかし、UPATrap法の創出により、ベクター挿入部位に関するこの著しい「偏り」が解消されたため、マウスES細胞中で全く発現(転写)されない遺伝子の機能を、ランダムな挿入型変異導入法によって「完全に」不活性化することが初めて可能となった。このアドバンテージを具体例で証明するため、前年度に引き続き、ES細胞などでは完全にシャットオフされているものの、マウス胸腺で特異的に発現する遺伝子がトラップされたES細胞クローンの探索を行った。

1. 胸腺特異的遺伝子ノックアウトマウス
平成23年度末までに、胸腺特異的遺伝子がトラップされたES細胞クローンをさらに複数株見出した。その中から3株を選別し、現在常法に従い、ノックアウトマウスの系統を樹立中である。

2. 胸腺特異的遺伝子ノックアウトの加速
改良されたUPATrapの最新バージョンでは、ベクター基盤にTol2トランスポゾンが採用されたため、標的細胞で発現中の遺伝子に偏って挿入される傾向は、レトロウイルス・ベクターの場合よりも有意に減弱した。しかし、この改良型トランスポゾン・ベクターの場合でも、発現しない遺伝子「のみ」を選択的にトラップすることはできない。この弱点を補い、欧米版KOMPのトラップ部門において殆ど未開拓状態として残されている「非発現遺伝子群」をES細胞中で重点的かつ迅速に破壊するため、ジフテリア毒素遺伝子による「負の選択」に基づく新しい遺伝子トラップ法DTrapを開発し、完成させた。ベクターの内部では、FLP遺伝子の発現によって期待通りの相同組換え(FLExタイプ)が引き起こされることを確認した。

10. キーワード

- (1) 遺伝子トラップ (2) マウスES細胞 (3) nonsense-mediated mRNA decay (4) ノックアウトマウス
(5) Tリンパ球 (6) UPATrap (7) (8)

11. 現在までの達成度

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。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。
 <区分>①当初の計画以上に進展している。 ②おおむね順調に進展している。 ③やや遅れている。 ④遅れている。

(区分)	
(理由)	

12. 今後の研究の推進方策

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。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。

13. 研究発表（平成23年度の研究成果）

※ 「13. 研究発表」欄及び「14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況」欄において記入欄が不足する場合には、適宜記入欄を挿入し、それによりページ数が増加した場合は、左端を糊付けすること。

〔雑誌論文〕 計（1）件 うち査読付論文 計（1）件

著者名	論文標題					
N. I. Mayasari et al.	Mixture of differentially tagged <i>Tol2</i> transposons accelerates conditional disruption of a broad spectrum of genes in mouse embryonic stem cells					
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁	
Nucleic Acids Research	有	40	2	0	1 2	In Press
掲載論文の DOI（デジタルオブジェクト識別子）						
10.1093/nar/gks262						

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	
掲載論文の DOI（デジタルオブジェクト識別子）						

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	
掲載論文の DOI（デジタルオブジェクト識別子）						

【学会発表】計(2)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名	発表標 題		
N. I. Mayasari	条件的遺伝子改変ES細胞株の量産とデータベース化		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
第34回 日本分子生物学会 年会	2011年12月13日～16日 (複数日ポスター発表)	パシフィコ横浜	

発表者名	発表標 題		
石田 靖 雅	Mixture of differentially tagged <i>Tol2</i> transposons accelerates conditional disruption of a broad spectrum of genes in mouse embryonic stem cells		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
The Company of Biologists Workshop "New Technologies and Applications for Genome Engineering"	2012年3月25日	Wiston House, Steyning, UK	

【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. 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。

--