様　式　Ｆ－７－１

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成２３年度）

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(C)

4．補助事業期間　平成２３年度～平成２５年度

5．課題番号　2 3 5 0 0 4 9 6

6．研究課題　改良型ＴＲＥＣＫマウスを用いた細胞移植系の確立

7．研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
4 0 3 7 9 5 5 8	サイトウ　ミチコ 斉藤　美知子	バイオサイエンス研究科	助教

8．研究分担者

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

改良型毒素受容体であるTR6を全身で発現するトランスジェニックマウスを作製した（CAG-TR6)。GFP融合ヒトHB-EGF 遺伝子（毒素受容体）を導入したマウス細胞のDT感受性は、野生型ヒトHB-EGFを導入したマウス細胞と変わらないことは確認済みである。そのため、トランスジーンの発現解析が容易になるように、TR6とGFP遺伝子を融合させたトランスジーンを用いた。改良型毒素受容体が有用であるかどうかの比較検討のため、野生型ヒトHB-EGFとTR6（改良型毒素受容体）両方を用いたトランスジェニックマウスの作製を行った。野生型ヒトHB-EGFでは全身発現させると生まれないという報告があるため、それぞれ100匹程度ずつのマウスが誕生するまで、C57BL/6J × C57BL/6Jの受精卵へトランスジーンのインジェクションを行う予定である。
　さらに、ルシフェラーゼ cDNAをチキンβアクチンプロモーターの下流に接続し、トランスジェニックマウスを作製した（CAG-Luc)。ルシフェラーゼ遺伝子をもったマウスからドナー細胞を採取し、このドナー細胞が移植後レシピエントマウスの体内でルシフェラーゼを産生すれば、IVIS System (Xenogen社)という化学発光を捉える機器で非侵襲的にモニターすることができる。作製したCAG-TR6と、CAG-Lucと掛け合わせれば、その子どもたちはすべての細胞でTR6とルシフェラーゼ遺伝子を持つことになり、ドナー細胞として利用するのに非常に有用である。様々な組織からの細胞採取ができるように、すべての組織でルシフェラーゼが発現するマウスを得ることを目的とし、得られた複数のトランスジェニックマウスラインにおいて、各組織の発現解析を行った。

10. キーワード

(1) 糖尿病　(2) 再生移植　(3)　(4)

(5)　(6)　(7)　(8)

11. 現在までの達成度

（区分）（3）やや遅れている。

（理由）

改良型TRECK糖尿病モデルマウスに関しては、毒素投与により糖尿病を発症するラインを維持している。しかし発現量の少なさのためか、改良型にしたことによる毒素感受性の低下のためか、従来の野生型ヒトHB-EGFを用いた糖尿病モデルマウスよりも、毒素に対する感度が悪いことがわかった。そのため、ホモ個体を作製して解析に用いることとし、掛け合わせを行っている。また、さらにもう一度インジェクションから行うことも検討している。
トランスジェニックマウスの作製に関しては、予定通りCAG-TR6とCAG-Lucの作製を行った。現在、CAG-Lucに関してはラインの選定中である。
ターゲティングマウスは、ベクターが導入されたES細胞がとれなかったため、引き続きES細胞へのターゲティングベクターの導入からやり直しているところである。

12. 今後の研究の推進方策　等

（今後の推進方策）

トランスジェニックマウス、ターゲティングマウスに関しては、引き続き作製、解析を行う。毒素受容体部分を蛍光蛋白質と融合させたTR6に置き換えたターゲティングベクターを用いてES細胞への導入を行っているが、なかなか導入細胞が得られないため、ベクターの再構築も視野に入れる。蛍光タンパク質の種類を替えることも計画している。
膵臓β細胞に異種のタンパク質を発現させると、形態や耐糖能に異常が出るという報告もあるので、発現量の異なる多くのラインを作製し、その中から有用なラインを選定する、という方向で解析を進めていく予定である。

（次年度の研究費の使用計画）

未使用額が生じた要因は、研究の進捗状況に合わせ、予算執行計画を変更したことに伴うものである。次年度も引き続き、トランスジェニックマウス、ターゲティングマウスを作製するためにその飼育費用、作製費用が必要である。また、ランゲルハンス島の数や形態の解析も行う必要があるため、組織画像を取り込んで解析するソフトの購入を計画している。

13.研究発表（平成23年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計(0)件　うち査読付論文 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

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
斉藤美知子、土屋雄一、岩脇隆夫、森和俊、河野憲二	Mechanism of diabetes development due to dysfunction of unfolded protein response

学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第34回日本分子生物学会	2011.12.15	パシフィコ横浜

発 表 者 名	発 表 標 題
Yuichi Tsuchiya, Michiko Saito, Jun-ichi Miyazaki, Takao Iwawaki, Kenji Kohno	Roles of the unfolded protein response pathways in pancreatic β cells

学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
Cold Spring Harbor Conferences Asia, Protein Homeostasis in Health and Disease 2011	2011.9.27	Suzhou Industrial Park 215123 China

〔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