

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成 22 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	遺伝子発現ネットワークの新たな性質解明を目指した合成生物学的アプローチ
研究機関・ 部局・職名	京都大学・学際融合教育研究推進センター 生命科学系キャリアパス形成ユニット・ 特定助教
氏名	戎家美紀

### 1. 当該年度の研究目的

本研究では、「1. 細胞パターンの作製」「2. 転写履歴追跡法の開発」「3. 転写の波及効果の再現」という3つの課題に取り組んでいます。課題1の今年度の目標は、最も易しいと思われるパターンの作製に向けて、基本的な条件検討を行うことです。例えば、どういった細胞種が適しているのかや、コンストラクション、遺伝子導入の方法などを検討します。課題2では、転写の頻度に応じてゲノムに変異を導入するためのキメラ分子作製にむけて、クローニングやDNA切断活性のチェックを行います。課題3では、転写の波及効果を人工的に起こすため、波及効果の起こる領域のクローニングとコンストラクションを行います。

### 2. 研究の実施状況

課題1では、細胞パターンの作製に向けて、基本的な条件検討を行いました。例えば、これまでは主にHEK293細胞とCHO細胞を用いてきましたが、これらの細胞は頻繁に動きまわるためパターン形成には不向きと考えられます。そこで、比較的動かない細胞種として、Caco2、HeLa、Vero、Eph4、MDCKなどを検討した結果、シグナル伝達の効率がよいMDCK細胞が適当という結果を得ました。しかし、MDCK細胞はウイルスの感染効率などは非常に悪いため、HEK293細胞とCHO細胞の運動を阻害剤で止めることも検討しました。コンストラクション方法としては、遺伝子断片を組み合わせるコンストラクションできるMultisite Gatewayシステムが効率がよいという結論に至りました。遺伝子導入方法としては、レンチウイルスによる導入後に安定細胞株を複数樹立する方法が、簡便であるし、多様な発現量の細胞株の中から最適なものを選べるという結論を得ています。

課題2では、キメラ分子に用いるDNA切断酵素の候補として、2つの遺伝子のクローニングを行いました。しかしどちらの酵素も、単体で発現させただけではゲノムの切断は観察できませんでした。今後、切断活性を持つようなこれらの酵素の変異体を作製するとともに、別の種類の酵素も検討したいと思います。

課題3では、波及効果が起こるIEGのプロモーター配列をクローニングし、レンチウイルスを用いてゲノムにランダムに挿入しました。現在、inverse PCR法による挿入位置の決定と、その近傍で新たな波及効果が観察できるかを調べています。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計0件	(掲載済み一査読有り) 計0件 (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計0件
会議発表 計0件	専門家向け 計0件 一般向け 計0件
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	
国民との科学・技術対話 の実施状況	
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額
直接経費	64,000,000	0	42,350,000	21,650,000
間接経費	19,200,000	0	12,705,000	6,495,000
合計	83,200,000	0	55,055,000	28,145,000

## 2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度 執行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額
直接経費	0	42,350,000	0	42,350,000	3,158,542	39,191,458
間接経費	0	12,705,000	0	12,705,000	0	12,705,000
合計	0	55,055,000	0	55,055,000	3,158,542	51,896,458

## 3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	3,158,542	サーマルサイクラー、分光光度計、実験試薬など
旅費		
謝金・人件費等		
その他		
直接経費計	3,158,542	
間接経費計	0	
合計	3,158,542	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
サーマルサイク ラー	Veriti96	1	831,600	831,600	2011/3/10	京都大学
極微量分光光度計	Nanodrop2000c	1	1,804,950	1,804,950	2011/3/9	京都大学
				0		