

課題番号	LS066
------	-------

**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	哺乳類の性特異的なエピゲノム構造とその維持機構の解明
研究機関・ 部局・職名	京都大学・ウイルス研究所・准教授
氏名	立花 誠

1. 当該年度の研究目的

性腺の体細胞特異的に LNGFR（細胞質ドメインを含まない）を発現するトランスジェニックマウスを樹立する。LNGFR のドライバには Ad4BP 遺伝子を用いる。目的のマウスで実際に LNGFR タンパク質が発現していることをフローサイトメータ解析によって確認する。さらにそれが生殖腺の体細胞に特異的な発現であることも確かめる。最終的に磁気ビーズを用いて生殖腺体細胞を単離精製する実験系を樹立する。この際に何個の生殖腺細胞から何個の体細胞が精製できるのか、またその精製度などを検討し、再現性の良い結果が得られるような条件を確立する。

2. 研究の実施状況

生殖腺体細胞を迅速に精製する系を確立することが平成 22 年度の目標であった。そのためには、目的の細胞にまず「目印」を付けることが先決である(図 1 参照)。その目印として、ヒトの low-affinity nerve growth factor receptor (LNGFR) 分子に着目した。この分子を用いる利点は、特異抗体を使用することによってその発現細胞のみを簡単に精製できる系が既に確立されていること、細胞質ドメインを削ってあるので抗体反応によって余計なシグナルが入る心配がない、等が挙げられる。

次に、発生工学的な手法によって性腺の体細胞特異的に LNGFR を発現するような遺伝子組み換えマウス（トランスジェニックマウス）を樹立した。このマウスにおいては、性腺特異的に発現する遺伝子（ドライバ）の制御下でのみ LNGFR タンパク質が発現しなければならない。よってドライバには性腺体細胞で発現する転写因子である Ad4BP を用いた。大腸菌内での相同組み換えを利用し、Ad4BP 遺伝子を含む大腸菌人工染色体の第 2 エキソンに LNGFR 遺伝子を組み込んだものを構築した。次にこの人工染色体をマウス受精卵に導入することによって、トランスジェニックマウスの樹立を試みた。生まれてきたマウスの遺伝子型の判別を行った結果、3 つの系統で LNGFR 遺伝子の保有が認められた。さらに、そのマウスの生殖腺をとりだしてフローサイトメータで LNGFR の発現を調べたのが図 2 である。図 2 に示すように、胎児の生殖腺で LNGFR を強く発現している細胞が存在することが分かった。

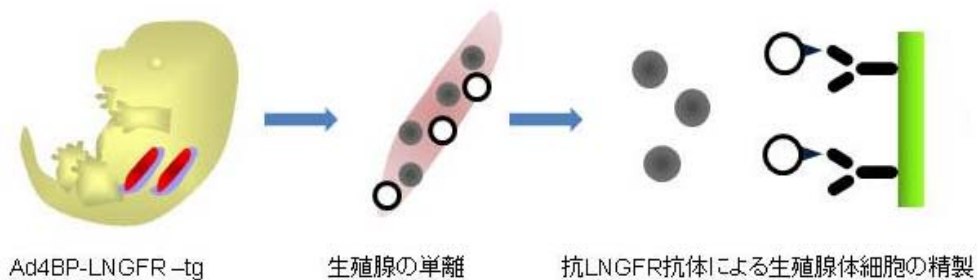


図1 マウス胎児から性腺体細胞を精製する系について。性腺体細胞の「目印」として、ヒトの low-affinity nerve growth factor receptor (LNGFR) 分子を用いた。

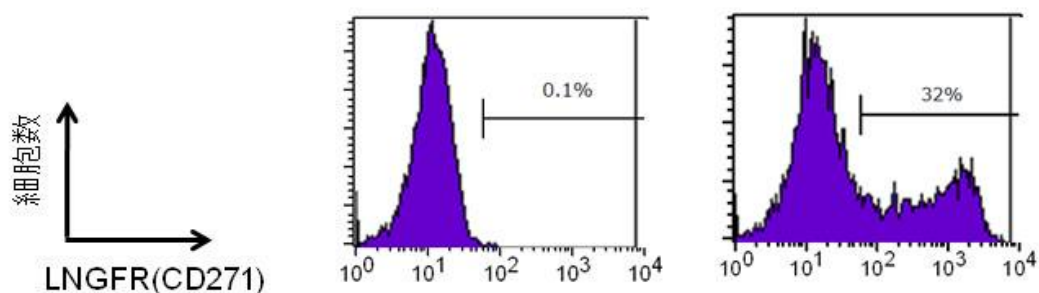


図2 フローサイトメータを使って、Ad4BP-LNGFRトランスジェニックマウスの生殖腺細胞を抗LNGFR抗体で染色した。

3. 研究発表等

雑誌論文 計0件	(掲載済み-査読有り) 計0件 (掲載済み-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	

様式19 別紙1

<p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>京都大学ウイルス研究所 組織・研究室紹介 附属感染症モデル研究センター ゲノム改変マウス研究領域 http://www.virus.kyoto-u.ac.jp/virus/genomukaihen.html</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>H22年度は行わなかった。</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計0件</p>	
<p>その他</p>	

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	123,000,000	0	46,900,000	76,100,000
間接経費	36,900,000	0	14,070,000	22,830,000
合計	159,900,000	0	60,970,000	98,930,000

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	46,900,000	0	46,900,000	13,608	46,886,392
間接経費	0	14,070,000	0	14,070,000	15,000	14,055,000
合計	0	60,970,000	0	60,970,000	28,608	60,941,392

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	13,608	実験試薬
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	0	
直接経費計	13,608	
間接経費計	15,000	
合計	28,608	

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
				0		
				0		
				0		