

課題番号	LS092
------	-------

**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	ゲノムリプログラミングにおけるクロマチン修飾制御機構の解明
研究機関・ 部局・職名	九州大学・生体防御医学研究所・助教
氏名	東田 裕一

1. 当該年度の研究目的

本研究では、哺乳類受精卵で起こる大規模なクロマチンのメチル化修飾消去機構を、卵母細胞に特異的に発現し、発生が進むにつれて急速に発現の低下するヒストン脱メチル化酵素 KDMX を中心とした制御因子の同定と機能解析により解明し、細胞のリプログラミングの全貌解明へと発展させ、高効率の細胞リプログラミング法の開発といった重要なイノベーションの創出に繋げることを目的としている。

当該年度は、卵母細胞に特異的に発現し、発生が進むにつれて急速に発現の低下するヒストン脱メチル化酵素 KDMX のマウス受精卵のクロマチンメチル化修飾消去機構における役割を明らかにするため、以下の方法で KDMX 機能欠損受精卵の作成に取り組む。マウス卵母細胞に siRNA 及び酵素機能欠損変異体の mRNA をマイクロインジェクションし、KDMX のノックダウン卵母細胞、ドミナントネガティブ変異体過剰発現卵母細胞をそれぞれ作成する。そして、これらの卵母細胞を体外成長・体外成熟させ、体外受精・顕微授精を行うことで、KDMX のノックダウン受精卵、ドミナントネガティブ変異体過剰発現受精卵の作成を試みる。また、KDMX のノックアウトマウスを作成し、そのマウスから KDMX ノックアウト受精卵を作成する。

一方、KDMX の発見に用いた方法であるトランスクリプトーム解析及びバイオインフォマティクス解析により、哺乳類受精卵で起こる大規模なクロマチンのメチル化修飾消去機構に関与する KDMX 以外の制御因子の同定を試みる。

2. 研究の実施状況

(1)KDMX機能欠損受精卵の作成

卵母細胞に特異的に発現し、発生が進むにつれて急速に発現の低下するヒストン脱メチル化酵素 KDMX の機能を明らかにするために(図1A)、まず KDMX の機能欠損受精卵の作成を以下の方法で試みた。

①卵母細胞を直接操作する方法

マウス卵母細胞に直接 siRNA 及び酵素機能欠損変異体の mRNA をマイクロインジェクションし、KDMX のノックダウン卵母細胞、ドミナントネガティブ変異体過剰発現卵母細胞をそれぞれ作成することで KDMX 機能欠損受精卵を作成する試みを行い、現在も継続中である(図 1B 左)。

②KDMX ノックアウトマウスから卵母細胞を得る方法

KDMX 遺伝子の欠失した KDMX ノックアウトマウスを作成し、そのマウスから KDMX 遺伝子の欠失した卵母細胞を得ることで KDMX 機能欠損受精卵を作成する試みを行った。現在までに KDMX ノックアウトマウスの作成に成功し、現在 KDMX 機能欠損受精卵を作成する試みを行っている(図 1B 右)。

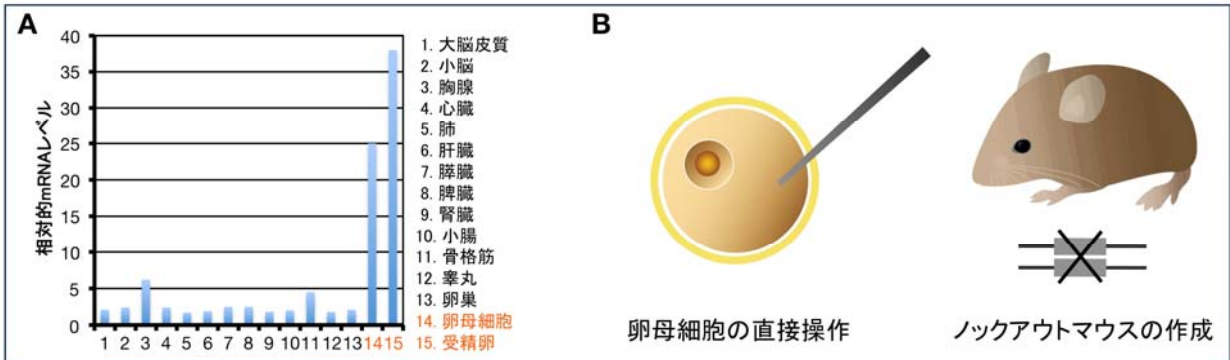


図1 | 卵母細胞に特異的に発現するヒストン脱メチル化酵素 KDMX の機能. (A) KDMX のマウス組織別発現. (B) KDMX 機能欠損受精卵の作成法. 卵母細胞を RNA のマイクロインジェクションにより直接操作する方法(左)とノックアウトマウスの作成(右)という2つの方法を用いて KDMX 機能欠損受精卵の作成を行う.

(2)新規制御因子の同定

KDMX の発見に用いた方法であるトランスクリプトーム解析及びバイオインフォマティクス解析により、哺乳類受精卵で起こる大規模なクロマチンのメチル化修飾消去機構に関与する KDMX 以外の制御因子の同定を試みた結果、卵母細胞に特異的に発現し、発生が進むにつれて急速に発現の低下するメチル化 DNA 水酸化酵素 TET3 を同定した。

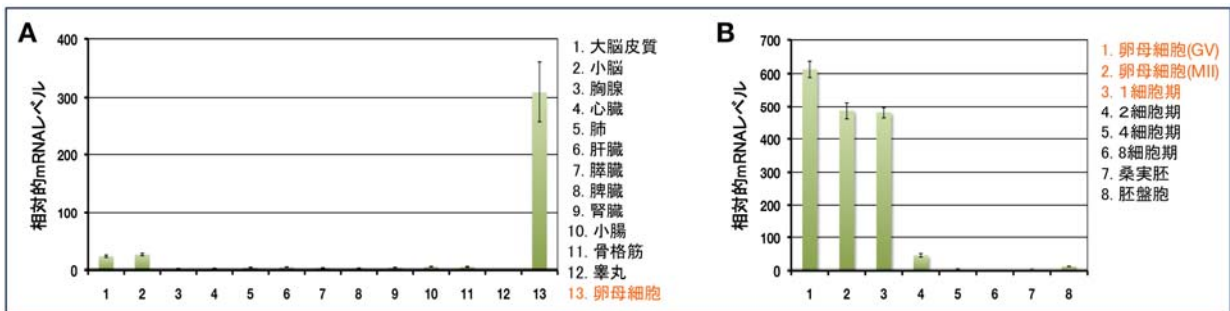


図2 | 新規制御因子 TET3 の同定. (A) TET3 のマウス組織別発現. (B) TET3 のマウス初期発生における発現.

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計0件
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	専門家向け 計0件
計0件	一般向け 計0件

様式19 別紙1

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)	研究内容の発表、ウェブページの題名:特色ある研究の取り組み、ウェブサイトの名称:九州大学、 アクセス URL: http://www.kyushu-u.ac.jp/research/topic/index.php
国民との科 学・技術対話 の実施状況	九州大学の WEB サイトの中に特色ある研究の取り組みとして、本プログラムの内容を公開し、研究目的・研 究内容の情報発信を行った。
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	117,000,000	0	48,600,000	68,400,000
間接経費	35,100,000	0	14,580,000	20,520,000
合計	152,100,000	0	63,180,000	88,920,000

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	48,600,000	0	48,600,000	6,876,504	41,723,496
間接経費	0	14,580,000	0	14,580,000	2,062,951	12,517,049
合計	0	63,180,000	0	63,180,000	8,939,455	54,240,545

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	6,312,654	超低温フリーザー、実験用マウス等
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	563,850	抗体作製
直接経費計	6,876,504	
間接経費計	2,062,951	
合計	8,939,455	

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
三洋電機(株) 超低温フリーザー	MDF-U53VS6	1	1,488,375	1,488,375	2011/3/23	九州大学
タイテック株式会社 中型恒温浸とう培 養機	BR-43FL・MR	1	823,200	823,200	2011/3/28	九州大学
微量高速冷却遠心 機(株)トミー精工 製	MX-305	1	846,720	846,720	2011/3/28	九州大学
フレーム中央大型 実験台(株)ダルト ン		1	548,100	548,100	2011/3/28	九州大学