

課題番号	LS109
------	-------

**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	トランスポゾンと他の遺伝子を区別する仕組み ーゲノムにおける自己と非自己認識システムー
研究機関・ 部局・職名	慶應義塾大学・医学部・専任講師
氏名	齋藤 都暁

1. 当該年度の研究目的

トランスポゾンの転写活性をモニターする *in vivo* 実験系を開発する。LTR 型レトロトランスポゾンのプロモーターとして機能する LTR 配列と EGFP との融合遺伝子を OSC に導入し、EGFP の発現が piRNA や piwi のノックダウンで上昇するか検討する。もしも発現上昇が認められた場合、OSC で RNA ポリメラーゼの構成因子やクロモドメイン蛋白質群、ヒストン修飾酵素などのノックダウンを行い、トランスポゾン転写に関わる因子を EGFP の発現を指標にスクリーニングする。トランスポゾン転写に関わる因子群のリコンビナント蛋白質を大腸菌で発現、精製する。精製蛋白質を用いて、各因子群に対するマウスモノクローナル抗体の作製を開始する。

2. 研究の実施状況

レトロトランスポゾンの一つである Copia の LTR 配列を PCR 増幅し、ベクターに挿入した。更に、EGFP との融合遺伝子を作製し、OSC に導入した。EGFP が発現するか否か OSC で検討した結果、piwi ノックダウンの細胞においても EGFP の発現は認められなかった。現在、この問題点を解決するため、ベクター配列の改変を行っている。一方、上記発現ベクターの構築と同時に、siRNA を用いた新規トランスポゾン制御因子を探索した。計 87 候補遺伝子の発現を抑制し、piRNA の生合成に必要な 8 遺伝子を見いだした。この中にはこれまで piRNA の生合成に関与するか否か報告されていない 2 つの新規遺伝子が含まれる。今後、これらの遺伝子の機能を解析することで更に piRNA の生合成機構が明らかにできると期待する。また、piRNA の生合成には必要ないが、トランスポゾンの抑制に重要な遺伝子を 2 つ見いだした。これらは Piwi-piRNA 複合体によるレトロトランスポゾン発現抑制の作用段階に機能するものと期待される。生合成及びトランスポゾンの抑制に関わる各遺伝子の機能を解析するため、大腸菌を用いた各遺伝子産物のリコンビナント蛋白質の精製を行った。2 種の蛋白質については既に精製を完了しており、これを用いて、マウスモノクローナル抗体の作製を開始した。また、OSC にて各遺伝子産物を過剰発現し、その細胞内局在を検討した。その結果、Zucchini や Armitage など既知の piRNA 生合成因子と同様の局在様式を示す蛋白質が見いだされた。従って、本解析を更に進めることで、piRNA 生合成機構の詳細を明らかにできると期待している。

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2件	専門家向け 計2件 Kuniaki Saito, piRNA pathways in Insect., Monterey, California (U.S.A.), 2011年3月20日-25日、Keystone symposia  Kuniaki Saito, Characterization of the primary piRNA biogenesis factors in Drosophila ovarian somas., 2011年3月20日-25日、Keystone symposia  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	本年度の実施なし
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	特になし

4. その他特記事項

特になし

## 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	125,000,000		47,400,000	77,600,000
間接経費	37,500,000		14,220,000	23,280,000
合計	162,500,000	0	61,620,000	100,880,000

## 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		47,400,000		47,400,000	4,469,259	42,930,741
間接経費		14,220,000		14,220,000	957,066	13,262,934
合計	0	61,620,000	0	61,620,000	5,426,325	56,193,675

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	4,469,259	実験試薬・器具類、RNA合成 他
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	0	
直接経費計	4,469,259	
間接経費計	957,066	
合計	5,426,325	

## 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
微量高速冷却遠心 機	(株)トミ精工・ 本体 MX-105, ロータ TMP-24	1	678,300	678,300	2011/3/4	慶應義塾大学
				0		
				0		