

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 23 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

トランスポゾン抑制因子のスクリーニングを継続し、関連蛋白質群を同定する。各因子が piRNA の生合成段階に関わるか、トランスポゾンの抑制段階に関わるか OSC を用いた実験系において明らかにする。既知の piRNA 生合成因子や Piwi 蛋白質との相互作用を確認し、機能推定を行う。各トランスポゾン抑制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行う。更にエピトープタグ付きの発現ベクターにクローニングし、OSC における細胞内局在を決定するとともに、相互作用蛋白質を同定する。

2. 研究の実施状況

培養細胞 OSC において、siRNA による遺伝子発現抑制を行い、114 遺伝子のトランスポゾン抑制因子スクリーニングを完了した。レトロトランスポゾン mdg1 の発現を指標に検討した結果、新たに 2 種類のトランスポゾン抑制因子を同定した。昨年度のスクリーニングと併せて計 4 種類の新規因子が得られたことから、これら 4 種類の詳細な分子機能を検討した。OSC における細胞内局在の解析から、ミトコンドリア上に局在する因子、Yb-body と呼ばれる顆粒状構造体に局在する因子、核内に局在する因子、細胞質全体に局在する因子が各 1 つずつ同定できた。次に、ミトコンドリア上に局在する因子 A について詳細な解析を行った結果、この因子は、N 末端にミトコンドリア移行シグナルを有しないことからなんらかのミトコンドリア局在因子と相互作用することが示唆された。piRNA 生合成因子の一つ Zucchini は、ミトコンドリア上に局在することから相互作用を検討したが、有意な相互作用は認められなかった。そこで A 因子に対する抗体を作製し、高品質のモノクローナル抗体の作製に成功した。この抗体を用いて、内在性 A 因子と相互作用する蛋白質を免疫沈降法にて検討した結果、いくつかの相互作用蛋白質を見いだした。一方、核内に局在する因子 B について解析した結果、piRNA の生合成には関与しないことを明らかにした。更に、OSC を用いたノックダウンとレスキュー実験を行い、証明した。大腸菌発現ベクターを用いて因子 B のリコンビナント蛋白質を作製し、マウスモノクローナル抗体の作製を行った。このようにスクリーニングで得られたトランスポゾン抑制因子の解析は順調に進行しており、得られた抗体や発現ベクターを用いて詳細な機能解析を行う段階に入った。

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3件	<p>専門家向け 計2件</p> <p>齋藤都暁 piRNAによるショウジョウバエ転移因子の抑制機構 第83回日本遺伝学会年会 京都(2011年9月)</p> <p>齋藤都暁 拡大するmiRNA研究 第29回日本骨代謝学会学術集会 大阪(2011年7月)</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>齋藤都暁 動く遺伝子の抑制機構 最先端・次世代研究開発支援プログラム「国民との科学・技術対話」 慶應義塾ライフ・イノベーションオープンセミナー 次世代を担う若手研究者たち 慶應義塾大学信濃町キャンパス 東京(2012年3月)</p>
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	最先端・次世代研究開発支援プログラム「国民との科学・技術対話」の趣旨に従い、2012年3月13日に慶應義塾大学信濃町キャンパスにて一般の方を対象としたオープンセミナーを開催した。「次世代を担う若手研究者たち」と題して行ったこのオープンセミナーでは、慶應義塾大学医学部の3名の最先端・次世代研究開発支援プログラム採択者が、研究の目的・手法、研究成果が将来の国民の生活にどのように役立つことが期待されるのか、などについて一般向けに解説した。学内外から約80名の参加者が集う活気あるセミナーとなった。研究代表者の表題は「動く遺伝子の抑制機構」。
新聞・一般雑誌等掲載 計1件	日経産業新聞、2012年3月9日、10面(先端技術)、見出し名「若手研究者がセミナー」
その他	

4. その他特記事項

特になし

実施状況報告書(平成23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せん

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	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	125,000,000	47,400,000	0	77,600,000	0
間接経費	37,500,000	14,220,000	0	23,280,000	0
合計	162,500,000	61,620,000	0	100,880,000	0

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 (未取利息を 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	当該年度返還 額
直接経費	42,930,741	0	0	42,930,741	42,301,153	629,588	0
間接経費	13,262,934	0	0	13,262,934	13,262,934	0	0
合計	56,193,675	0	0	56,193,675	55,564,087	629,588	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	28,080,372	実験試薬・器具類、RNA合成 他
旅費	853,160	研究成果発表旅費 他
謝金・人件費等	7,527,421	特任助教人件費 他
その他	5,840,200	高速シーケンス解析費、ゲノムシーケンサー修理費 他
直接経費計	42,301,153	
間接経費計	13,262,934	
合計	55,564,087	

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
液体窒素保存容 器	テイラーワートン社製 LS-3000	1	641,261	641,261	2011/4/6	慶應義塾大学
マルチラベルリー ダー	パーキンエルマー・ジャパ ン社製 ARVO X2シ ステム 他	1	3,402,000	3,402,000	2011/7/1	慶應義塾大学
				0		