

課題番号	LS112
------	-------

**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25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	哺乳類らしさを形作るメカニズム
研究機関・ 部局・職名	東海大学・健康科学部・教授
氏名	金児-石野 知子

1. 当該年度の研究目的

哺乳類特異的遺伝子の機能および哺乳類特異的エピジェネティック機構の解析を通じて、哺乳類らしさが形成されるメカニズムを明らかにする。具体的には①スシイチレトロトランスポゾンに由来する3つの真獣類特異的遺伝子 Sirh3, 7, 11 のノックアウトマウスの解析により、これら遺伝子の哺乳類特異的機能を解明する。②ゲノムインプリンティングは親由来の記憶として哺乳類の個体発生に重要であるが、その片親性遺伝子発現制御領域の DNA メチル化によるインプリント記憶が始原生殖細胞において消去されるプロセス(DNA 脱メチル化)が能動的または受動的機構のどちらであるかを明らかにする。③また、有袋類の細胞をもちいて真獣類のゲノムインプリンティング機構との差異を明らかにする。

2. 研究の実施状況

①Sirh7 のノックアウトマウスでは、妊娠メスの分娩前の血中プロゲステロン(P4)濃度の低下が遅れるため出産遅延が起き、産仔の離乳率の低下を観察した。この原因が胎盤からのホルモン分泌異常であることを明らかにした。この研究過程で、胎盤が妊娠中期に一時的な P4 分泌を示す決定的な実験的証拠をえた。マウスの妊娠では恒常的に卵巣が P4 産生を行なうと考えられ、一時的に血清 P4 濃度の低下がおきる妊娠中期に妊娠がどのように維持されるか、40年近く謎であった。今回、その問題を解明するだけでなく、Sirh7 が種々の胎盤細胞の分化・成熟に機能することで、妊娠維持に関する胎盤の内分泌機能に関わることを明らかにした。これまで報告した Peg10 と Peg11 とあわせ、レトロトランスポゾン由来の3つの遺伝子が、それぞれ異なる胎盤機能を有することを明らかにした(論文投稿中)。Sirh3、Sirh11 のノックアウトマウスは夜間行動性の減少と上昇という逆の表現型を呈することから、哺乳類特異的遺伝子の中には行動に関わる機能をもつものがあることが明らかになった。現在、脳における機能を解析している。②ゲノムインプリント記憶の消去に関しては、近年、受動的 DNA 脱メチル化によるとの報告が相次いたが、in vivo において DNA 複製や能動的脱メチル化阻害剤が、消去反応を阻害することから、この過程に能動的な DNA 脱メチル化が関与することを世界で初めて実証した(Scientific Reports 2014)。③有袋類の初代培養では細胞分裂回数の不足からヒストンメチル化酵素のノックダウンによる影響は測定できなかったが、マウス単為発生胚から半数体 ES 細胞を樹立し、さらにそれを分化させる系を初めて確立した。これをもちい、X 染色体不活性化における未知の制御因子があることを示唆する結果を得た(論文投稿中)。以上、①の哺乳類特異的遺伝子の機能および②、③の哺乳類特異的遺伝子発現機構に関するオリジナルな成

様式19 別紙1

果は、ヒトを含む真獣類の成立の理解に大きく貢献すると考えている。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 2 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件 ①Iwasaki, S., Suzuki, S., Clark, H., Ono, R., Shaw G., Renfree, M. B., Kaneko-Ishino, T. and Ishino, F. Identification of novel <i>PNMA-MS1</i> in marsupials suggests LTR retrotransposon-derived <i>PNMA</i> genes differently expanded in marsupials and eutherians. <i>DNA Res</i>, 20(5) 425-436 (2013). ②Kawasaki Y, Lee J, Matsuzawa A, Kohda T, Kaneko-Ishino T and Ishino F. Active DNA demethylation is required for complete imprint erasure in primordial germ cells. <i>Sci Rep</i>, 4:3658 (2014). (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 9 件</p>	<p>専門家向け 計 9 件 ①入江将仁¹、石野史敏²、金児-石野知子¹(¹東海大学・健康科学、²東京医科歯科大・難研・エピジェネティクス) レトロトランスポゾン由来の遺伝子 <i>Sirh3</i> の機能解析 筑波、2013年6月、第27回モロシヌス研究会 ②石野史敏¹、成瀬美衣^{1,2}、小野竜一¹、日野敏昭³、赤塚明⁴、中村健司³、横山峯介^{3,5}、金児-石野知子² (¹東京医歯大・難研・エピジェネティクス ²東海大・健康科学 ³三菱生命件、⁴東海大・研究支援センター ⁵新潟大・脳研) レトロトランスポゾン由来の真獣類特異的遺伝子 <i>Sirh7</i> の胎盤における機能 日吉、2013年9月 日本遺伝学会 第85回大会 ③¹M. Irie, ^{1,2}M. Naruse, ²T. Kohda, ²R. Ono, ³S. Wakana, ²F. Ishino, ¹T. Kaneko-ishino (¹School of Helth sciences, Tokai University, ² Dept. of Epigenetics, Tokyo Medical & Dental University, ³ RIKEN BioResouce Center) A sushi-ichi retrotransposon-derived <i>Sirh3</i> is a eutherian specific gene and its knockout mice display decreased daily activity. Amsterdam, 2013 Sept.. the 5th EMBO meeting ④^{1,2}M. Naruse, ¹R. Ono, ^{3,4}K. Nakamura, ⁵T. Furuse, ^{3,6}T. Hino, K. ^{3,6}Oda, ⁵M. Kashimura, ⁵I. Yamada, ⁵S. Wakana, M. ^{3,7}Yokayama, ¹F. Ishino, ²T. Kaneko-ishino (¹Dept. of Epigenetics, Tokyo Medical & Dental University ²School of Helth sciences, Tokai University ³Mitsubishi Kagaku Institute of Life Sciences ⁴Faculty of Medicine, Tokai University ⁵The Japan Mouse Clinick, RIKEN BioResouce Center ⁶Brain Research Institute, Niigata University) <i>Sirh7</i>, a newly acquired gene from an LTR retrotransposon in eutherian mammals, plays an essential role in viviparity. Amsterdam, 2013 Sept.. the 5th EMBO meeting ⑤Fumitoshi Ishino¹ and Tomoko Kaneko-Ishino² (¹ Dept. of Epigenetics, Tokyo Medical & Dental University ² School of Helth sciences, Tokai University) Mammalian Evolution Promoted by LTR-Retrotranspospm-Derived Genes. Kyoto, 2013 Nov. 1st Kyoto International Symposium on Virus-Host Coevolution ⑥石野史敏¹、鈴木俊介²、金児-石野知子³ (¹東京医科歯科大・難研・エピジェネティクス、²信州大農 近未来センター エピゲノミクス、³東海大学・健康科学) 哺乳類におけるゲノムインプリンティングと胎生の進化 神戸、2013年12月 第36回日本分子生物学会年会 ⑦入江将仁¹、成瀬美衣^{1,2}、幸田尚²、小野竜一²、若菜茂晴³、石野史敏²、金児-石野知子¹(¹東海大学・</p>

様式19 別紙1

	<p>健康科学、²東京医科歯科大・難研・エピジェネティクス、³理研 BRC) Sushi-ichi レトロトランスポゾン由来の遺伝子 <i>Sirh3</i> の機能解析 神戸、2013 年 12 月 第 36 回日本分子生物学会年会</p> <p>⑧¹M. Irie, ^{1,2}M.Naruse, ²T.Kohda, ²R. Ono, ³S. Wakana, ²F.Ishino, ¹T. Kaneko-ishino (¹School of Health sciences, Tokai University, ² Dept. of Epigenetics, Tokyo Medical & Dental University, ³ RIKEN BioResource Center)</p> <p>A sushi-ichi retrotransposon- derived <i>Sirh3</i> is a eutherian specific gene and its knockout mice display decreased daily activity. Santa Fe, New Mexico, USA Mar. 2014 Keystone Symposia –Mobile Genetic Elements and Genome Evolution</p> <p>⑨¹F.Ishino, ^{1,2}M.Naruse, ¹R. Ono, ^{3,4}K. Nakamura, ⁵S. Wakana, ^{3,6}Yokayama, ²T. Kaneko-ishino (¹Dept. of Epigenetics, Tokyo Medical & Dental University ²School of Health sciences, Tokai University ³Mitsubishi Kagaku Institute of Life Sciences ⁴Faculty of Medicine, Tokai University ⁵The Japan Mouse Clinick, RIKEN BioResource Center ⁶Brain Research Institute, Niigata University)</p> <p>Sciences, Asahikawa Medical university) <i>Sirh7</i>, an acquired gene from an LTR retrotransposon in eutherian mammals, plays an essential role in viviparity. Santa Fe, New Mexico, USA Mar. 2014 Keystone Symposia –Mobile Genetic Elements and Genome Evolution</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書</p> <p>計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>該当なし</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>オープンキャンパス 模擬授業(2013 年 8 月 25 日)</p> <p>高校生およびその保護者対象 参加者数 70 名 「DNA を見てみよう」講演</p> <p>東海大学・伊勢原市提携事業総合型地域スポーツクラブ／大学開放講座 (2013 年 11 月 16 日)</p> <p>伊勢原市民対象 大学開放講座 参加者数 30 名 「健康と遺伝子」講演</p> <p>伊勢原市民対象 健康クラブ 参加者数 50 名 「健康と遺伝子」講演</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載</p> <p>計 3 件</p>	<p>マイナビニュース テクノロジー 2014 年 2 月 19 日</p> <p>「TMDU など「始原生殖細胞」における「能動的 DNA 脱メチル化」を究明」</p> <p>日経バイオテク オンライン アカデミック版 2014 年 2 月 28 日</p> <p>「東京医科歯科大と東海大、始原生殖細胞のゲノムインプリント消去で能動的脱メチル化機構を実証」</p> <p>QLife Pro 医療ニュース 2014 年 3 月 8 日</p> <p>「東京医科歯科大 ゲノムインプリント消去には能動的脱メチル化が必要であることを明らかに」</p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25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	135,000,000	94,190,000	40,810,000	0	0
間接経費	40,500,000	28,257,000	12,243,000	0	0
合計	175,500,000	122,447,000	53,053,000	0	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	当該年度返還 額
直接経費	20,078,931	40,810,000	0	60,888,931	60,888,931	0	0
間接経費	0	12,243,000	0	12,243,000	12,243,000	0	0
合計	20,078,931	53,053,000	0	73,131,931	73,131,931	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	27,642,148	実験用マウス、器材、試薬、DNAマイクロレイ 他
旅費	632,550	学会(日本分子生物学会)参加による旅費 他
謝金・人件費等	13,580,941	特任助教員1名、臨時職員1名 他
その他	19,033,292	東海大学実験動物センター利用料 他
直接経費計	60,888,931	
間接経費計	12,243,000	
合計	73,131,931	

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
リアルタイムPCRシステム	ライフテクノロジーズ ジャパン(株)	1	4,990,000	4,990,000	2013.5.30	東海大学
微量高速冷却遠心 機	トミー工業(株)	1	965,000	965,000	2013.7.30	東海大学
恒温振とう培養機	タイテック(株)	1	845,000	845,000	2013.8.9	東海大学
多検体精密破砕機 マルチピースショッカー	安井器械(株)	1	2,050,000	2,050,000	2013.8.30	東海大学
マイクロアレイキャナシス テム	アジレント・テクノロジー (株)	1	9,975,000	9,975,000	2013.11.11	東海大学
キメラマウス(Sirh3 NV)1匹	発生工学研究会	1	567,000	567,000	2014.1.9	東海大学
キメラマウス(Sirh3 CV)1匹	発生工学研究会	1	567,000	567,000	2014.1.9	東海大学