

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 23 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

<p>1) Sushi-ichi レトロトランスポゾンに由来する3つの哺乳類特異的遺伝子 <i>Sirh7</i>, <i>Sirh3</i>, <i>Sirh11</i> のノックアウトマウスの分子生物学的解析および行動解析を行い、これら遺伝子の機能を明らかにする。</p> <p>2) 哺乳類における DNA 脱メチル化機構の解析 受精卵における雄性前核の DNA 脱メチル化機構について、脱メチル化のタイミングと DNA の複製タイミングの関係を明らかにする。これまで、この過程はアクティブな脱メチル化と見なされていたが、実際には、メチルシトシンのヒドロキシメチル化反応に続くパッシブな脱メチル化反応である可能性が高い。このポイントを確認しておくことは、今後の生殖始原細胞における DNA 脱メチル化機構の解明のために重要と位置づけている。</p> <p>3) 生殖細胞特異的な DNA メチル化の解析 雌雄の生殖細胞においてレトロトランスポゾンの DNA メチル化の状態を明らかにする。これをゲノムインプリント機構において重要な機能をはたす制御領域のメチル化状態との関連を明らかにする。</p>

2. 研究の実施状況

<p>1) <i>Sirh3</i>, <i>Sirh7</i>, <i>Sirh11</i> 遺伝子のノックアウトマウスの解析 DNA マイクロアレイによる各臓器の遺伝子発現解析、発現の見られる組織での正確な発現を <i>in situ</i> hybridization や免疫染色法で解析し、組織像解析を継続した。遺伝子発現部位が脳や生殖器である <i>Sirh3</i>, <i>7</i> 遺伝子のノックアウトマウスは行動解析ために理化学研究所のマウスクリニックで繁殖を行い、行動解析へと進めている。また、生理的狀態の解析から得られた結果に基づき、脳や生殖器におけるホルモン調節や代謝制御への <i>Sirh</i> 遺伝子の関与を明らかにするために、採取したサンプルのホルモン値測定を外注して解析を進めている。</p> <p>2) 哺乳類における DNA 脱メチル化機構の解析 受精卵における雄性前核の DNA 脱メチル化機構については、雌雄前核の融合が起きるまでの過程にアクティブな脱メチル化が起きると言われて来た。しかし、これまでの bisulfate 解析の報告は、実際には受精後5時間目から始まる DNA 複製に由来する受動的脱メチル化によることを実験的に確認した。この1-2年で、メチル化抗体での蛍光シグナルの急速な低下が、シトシンメチル基のヒドロキシメチル化に由来するものであることが明らかになった。DNA 複製の問題とあわせて、申請者が予想したとおり、この時期にはアクティブな脱メチル化反応は起きていないことは、現在では世界共通認識となっている。この受精直後の解析は終了し、生殖細胞における解析に進んだ。雌雄の生殖細胞におけるインプリンティング領域の脱メチル化反応は、bisulfate 解析の結果からヒドロキシメチル化の影響を考慮しても受動的脱メチル化では説明でき</p>
--

様式19 別紙1

ない。この部分がアクティブな脱メチル化に由来するかを解析するために、*exo vivo* で生殖隆起を培養し、中に含まれる PGC の脱メチル化を測定する詳細な実験条件の検討を行っている。

3) 生殖細胞特異的な DNA メチル化の解析
 昨年、雌雄の生殖細胞における DNA メチル化の解析が報告された。この情報に基づき新規レトロトランスポゾンの挿入が起きた部位での DNA メチル化の解析をスタートさせた。

3. 研究発表等

雑誌論文 計 3 件	(掲載済み一査読有り) 計 3 件 ①Shunsuke Suzuki ^{1,2,3} , Geoffrey Shaw ^{1,2} , <u>Tomoko Kaneko-Ishino</u> ⁴ , Fumitoshi Ishino ³ and Marilyn B Renfree ^{1,2} (1ARC Center of Excellence for Kangaroo, 2The University of Melbourne, 3Department of Epigenetics, Medical research Institute, Tokyo Medical and Dental University, 4Tokai University, School of Health Sciences) Characterisation of marsupial PHLDA2 reveals eutherian specific acquisition of imprinting. BMC Evolutionary Biology (2011) 11:244 ②Ryuichi Ono ¹ , Yoko Kuroki ² , Mie Naruse ^{1,3} , Masayuki Ishii ^{1,2} , Sawa Iwasaki ¹ , Atsushi Toyoda ⁴ , Asao Fujiyama ^{4,5} , Geoff Shaw ^{6,7} , Marilyn B. Renfree ^{6,7} , <u>Tomoko Kaneko-Ishino</u> ³ , and Fumitshi Ishino ¹ (1Department of Epigenetics, Medical research Institute, Tokyo Medical and Dental University, 2RIKEN Research Center, 3 Tokai University, School of Health Sciences, 4National Institute of Genetics, 5National Institute of Informatics, 6 ARC Center of Excellence for Kangaroo, 7 The University of Melbourne) Identification of tammar wallaby SIRH12, derived from a marsupial-specific retrotransposition event.. DNA Research (2011) June2, pp.1-9 ③Shunsuke Suzuki ^{1,2} , Geoffrey Shaw ^{1,2} , <u>Tomoko Kaneko-Ishino</u> ³ , Fumitoshi Ishino ⁴ and Marilyn B. Renfree ^{1,2} (1ARC Center of Excellence for Kangaroo, 2The University of Melbourne, 3Tokai University, School of Health Sciences, 4Department of Epigenetics, Medical research Institute, Tokyo Medical and Dental University) The Evolution of Mammalian Genomic Imprinting Was Accompanied by the Acquisition of Novel CpG Islands. Genome Biology and Evolution (2011) 3: 1276-1283 (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件
会議発表 計 9 件	①Fumitoshi Ishino ¹ , <u>Tomoko Kaneko-Ishino</u> ² (1Department of Epigenetics, Medical research Institute, Tokyo Medical and Dental University, 2Tokai University, School of Health Sciences) Evolution of genomic imprinting in mammals. 沖縄、2012年5月 44th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists ②Fumitoshi Ishino ¹ , Ryuichi Ono ¹ , Shunsuke Suzuki ¹ , Yoichi Sekita ¹ , Mie Naruse ^{1,2} , Takashi Kohda ¹ and <u>Tomoko Kaneko-Ishino</u> ² (1Department of Epigenetics, Medical research Institute, Tokyo Medical and Dental University, 2Tokai University, School of Health Sciences) Role of retrotransposons in mammalian evolution-Domesticated genes for mammalian-specific functions-. City of Hope, 2012年8月、U.S.-JAPAN CONFERENCE: INFLAMMATION, DIABETES AND CANCER ③Fumitoshi Ishino ¹ and <u>Tomoko Kaneko-Ishino</u> ² (1Department of Epigenetics, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, 2Tokai University, School of Health Sciences.) Evolution of viviparity and genomic imprinting in mammals by

様式19 別紙1

	<p>retrotransposons. マルセイユ、2012年9月、15th Evolutionary Biology Meeting at Marseilles</p> <p>④Iwasaki, S.¹; Kohda, T.¹; <u>Kaneko-Ishino, T.²</u>; Ishino, F.¹ (¹Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, ²School of Health Sciences, Tokai University, Kanagawa.)</p> <p>Genomic imprinting status of retrotransposon-derived PNMA-family genes. パルセロナ、2012年9月、ICC on Genomic Imprinting and Beyond</p> <p>⑤成瀬 美衣^{1,2}, 日野 敏昭³, 赤塚 明⁴, 幸田 尚¹, 中村 健司³, 横山 峯介⁵, 小野 竜一¹, <u>金児-石野 知子²</u>, 石野 史敏¹ (¹東京医科歯科大・難研・エピジェネティクス, ²東海大学・健康科学, ³三菱化学生命科学研究所, ⁴東海大学・教育研究支援センター, ⁵新潟大学・脳研)</p> <p>レトロトランスポゾン由来の遺伝子 Sirh7 KO マウス胎盤の解析、横浜、2011年12月、第34回日本分子生物学会年会</p> <p>⑥入江 将仁¹, 成瀬 美衣^{1,2}, 幸田 尚², 小野 竜一², 石野 史敏², <u>金児-石野 知子¹</u> (¹東海大・健康科学, ²東京医歯大・難治研・エピジェネティクス)</p> <p>Sushi-ichiレトロトランスポゾン由来の遺伝子 Sirh3 の機能解析、横浜、2011年12月 第34回日本分子生物学会年会</p> <p>⑦岩崎 佐和¹, Geoff Shaw², 小野 竜一¹, 鈴木 俊介², Marilyn.B Renfree², <u>金児-石野 知子³</u>, 石野 史敏¹ (¹東京医歯大・難研・エピジェネティクス ²Dept. of Zoology., Univ. of Melbourne, ³東海大・健康科学)</p> <p>Identification of PNMA-MS1, a retrotransposon-derived gene specific to marsupial mammals、横浜、2011年12月、第34回日本分子生物学会年会</p> <p>⑧I小野 竜一¹, 黒木 陽子², 成瀬 美衣^{1,3}, 石井 雅之^{1,2}, 岩崎 佐和¹, 豊田 敦⁴, 藤山 秋佐夫^{4,5}, Geoff Shaw⁶, Marilyn Renfree⁶, <u>金児-石野 知子³</u>, 石野 史敏¹ (¹東京医科歯科大学・難研・エピジェネティクス, ²理研(横浜), ³東海大学, ⁴国立遺伝研, ⁵国立情報研, ⁶メルボルン大学) Identification of SIRH12, a retrotransposon-derived gene specific to marsupial mammals、横浜、2011年12月 第34回日本分子生物学会年会</p> <p>⑨石野 史敏¹, 小野 竜一¹, 成瀬 美衣^{1,2}, 入江 将仁², 岩崎 佐和¹, 石井 雅之¹, <u>金児-石野 知子²</u> (¹東京医歯大・難治研・エピジェネティクス, ²東海大学健康科学部)、レトロトランスポゾンから獲得した遺伝子群の哺乳類進化における重要性、横浜、2011年12月、第34回日本分子生物学会年会 シンポジウム 専門家向け 計9件 一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	
<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>現在作成中ですので、作成できましたらご連絡いたします。</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>・東海大学 HP(行政機関採択事業／教育 GP)に掲載 ・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 (2011年10月8日)</p>

様式19 別紙1

	<p>伊勢原市民対象 参加者数 78 名 「健康と遺伝子」について講演</p> <ul style="list-style-type: none"> ・東海大学付属高輪台高等学校(スーパーサイエンスハイスクール(SSH))にて「女性研究者と理工系進学者との交流会 (2011 年 11 月 24 日) 高校1年生女子対象 参加者数 12 名
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計 4 件</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・東海大学新聞(2011 年 4 月 1 日号)に掲載 ・東海イズム-毎日jp(毎日新聞) WEBマガジン クローズアップ研究室 (2011 年 8 月 1 日掲載) ・東海大学学園誌(VISTA vol.212 2011 年 6 月号)に掲載 ・科学新聞に掲載(2011 年 12 月 2 日 第 3367 号)
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

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ず

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	48,050,000	0	86,950,000	
間接経費	40,500,000	14,415,000	0	26,085,000	
合計	175,500,000	62,465,000	0	113,035,000	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	46,838,976	0	0	46,838,976	24,854,516	21,984,460	
間接経費	14,051,693	0	0	14,051,693	7,446,071	6,605,622	
合計	60,890,669	0	0	60,890,669	32,300,587	28,590,082	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	10,758,299	実験用マウス、器材、試薬、DNAマイクロアレイ 他
旅費	5,520	第34回日本分子生物学会年会 入江将仁(12/13-16)
謝金・人件費等	5,468,698	ポストドクター1名、臨時職員2名
その他	8,621,999	東海大学実験動物センター、教育・研究支援センター利用料他
直接経費計	24,854,516	
間接経費計	7,446,071	
合計	32,300,587	

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		