

### 3. (3) 研究成果 (様式6)

[様式6]

サブテーマ名：マウス長鎖cDNAの取得・構造解析とそのための効率化技術の開発 小テーマ名：cDNAクローンのプラスミド調製とその塩基配列決定	
サブテーマリーダー(所属、役職、氏名)	千葉県産業振興センター(主任研究員)古閑 比佐志
研究従事者(所属、役職、氏名)	千葉県産業振興センター(研究員)稲本 進 (主任研究員)古閑比佐志
研究の概要、新規性及び目標	
<p>①研究の概要</p> <p>まず、平成13-15年度の地域分研究開発(サブテーマ1・小テーマ2)において、ヒトKIAA遺伝子に相同性を有するマウス遺伝子を取得し、そのために必要な遺伝子ソースであるライブラリーの作製及びその末端配列解析を実施した。次に当該小テーマにおいて、得られた末端配列のコンピュータによる相同性検索から該当するマウス遺伝子クローンを選択し全長配列解析に供した。選択されたクローンのプラスミド調整は全長配列解析に用いるのみならず、cDNAアレイ作製のためのソースとして保存・管理した。さらに、全長配列解析はショットガン法を用い、その産物がテーマ2における抗原発現プラスミドの作製に直接利用できるよう調整した。mKIAA遺伝子の取得が終了したことから、平成17年度には一旦このテーマを終了した。mKIAA以外の長鎖cDNAに研究の幅を広げることは、フェーズIIIのける事業家に有利との判断から、平成18年度には同様の作業を再開した。具体的には250クローンについてマウス長鎖cDNAクローン(mKIBB)のプラスミド調製を行ない、そのうち50をサブテーマ2の全長配列解析へ供した。</p> <p>②研究の独自性・新規性</p> <p>従来行われてきたcDNAプロジェクトは特定の種に限定して行われてきた。しかしながら、本プロジェクトではすでにヒトで取得したcDNAに対する相同遺伝子を取得することを目指しており、結果としてヒト及びモデル生物(マウス)の遺伝子セットを保有することになる。このような遺伝子セットの保有は他に類を見ない独自性のある研究を可能とし、ヒト・マウス遺伝子間の比較を行えるのみでなくヒト遺伝子では困難な生物学的解析へ研究の幅を広げるための有用なマテリアルになるものである。更に我々が利用している<i>in vitro</i> recombination-assisted法は塩基配列決定のみでなくその後の網羅的抗体作製までの作業を一貫して可能とする方法論であり、この方法論のショットガン法への適応は全く新規な試みである。</p> <p>③研究の目標(各フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に)</p> <p>(フェーズI)2000種類のヒトKIAA遺伝子に対するマウス相同遺伝子を取得する。そのために、平成13年度は、コア研究室の整備・方法を確立した。次に確立したシステムを生かして、遺伝子の全長解析数は13年度に100、14、15年度にはそれぞれ800遺伝子を達成した。当初目標の2000遺伝子は平成16年度上期において残り300遺伝子の解析することで終え、最終的にフェーズIの目標に到達した。</p> <p>(フェーズII)取得したマウス長鎖cDNAは、創薬研究用及び遺伝子解析等の基礎研究用ツールとして早期に順次商品化することを目指した。さらに、マウス長鎖cDNA2,000クローンに対する類似遺伝子の包括的取得として、平成18年度においてさらに250遺伝子の取得・50遺伝子(mKIBB)の全長配列解析を達成した。</p> <p>(フェーズIII)マウス長鎖cDNAを創薬研究用及び遺伝子解析等の基礎研究用ツールとして提供するビジネスへ展開する。</p>	
研究の進め方及び進捗状況(目標と対比して)	
<p>現在までに目標は完全に達成している。具体的には、13年度は効率的に実験を行いつつ解析するための各種大型機器(キャピラリーシーケンサーやロボット式液体サンプル処理システムなど)を導入し、これらの機器を有効に活用するシステムも確立して、プロジェクト内でも数値目標2000は平成16年度の上期で早々と終了した。この当初目標に加え、平成18年度さらに250遺伝子の取得に成功し、プロジェクト全体を見ると、約1割当初数値目標を凌駕したことになる。このことは、人員の拡充やシステム自体の弛まぬ改良によって達成された。</p>	

主な成果

具体的な成果内容：

特許件数：12

論文数：3

口頭発表件数：6（海外1）

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

国内外を問わず、本プロジェクトと同様なコンセプトを持つプロジェクトは実施されていない。

具体的には、マウス遺伝子のみでの取得であれば、理化学研究所やNIA(米国国立加齢研究所)のグループが行っている。しかしながら、①将来的に蛋白質レベルでの研究を見越した我々のリソース作りは、より発展性を有した研究成果であると思われる。②遺伝子数が2250と前2者のものと比較するとはるかに少ないが、長鎖遺伝子であるが故の重要性(疾患関連遺伝子がが多いなど)を持ち合わせている。具体的には、従来では複数の遺伝子と報告されていたモノにおいて、我々が保有する遺伝子の異なる部分断片である事が明らかになった事例が発見された。従って、我々が保有する遺伝子は過剰に錯綜する遺伝子情報を整理する意味からも極めて重要な位置を占めると考えられる。

2 実用化に向けた波及効果

プロジェクト開始当初における最も可能性のある遺伝子情報の利用法はDNAマイクロアレイへの利用であった。しかしながらアフィメトリックス社を代表するようなコマーシャルレベルでのオリゴDNAマイクロアレイが主流となった現在、別の用途を模索する必要がある。その観点から、千葉県はウィスコンシン州にあるプロメガス社との共同事業も開始し、現在これによって各種発現系に転用可能なcDNAクローンの改変に成功している。今後はこの系を利用して取得したcDNAクローンも順次改変して、販売可能な形態を構築していく。このことによりcDNAクローンの利用は著しく盛んになり、機能解明が進むとともに、ドラッグターゲットの同定などの産業化に直結する展開も開くものと思われる。

残された課題と対応方針について

後継プロジェクトでの有効利用が可能ないように、蓄積された遺伝子資源を整理・拡充していく。具体的には我々の誇るべき点は、長鎖であることとともにマウスとヒトの遺伝子セットの保有である。従って、一部counterpartのクローニングできていないものに関しては、積極的にそれを取得する。現在かずさDNA研究所が進めているMGC(Mammalian Gene Collection)からのクローン取得は、この点からも意義あるものになるだろう。

	J S T負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合 計
	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小計	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小計	
人件費	2,537	14,021	12,803	5,970		1,402	36,733	4,190	18,179					22,369	59,102
設備費	49,228	3,429					52,657								52,657
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	36,510	61,716	21,700	8,203	628	7,289	136,046								136,046
旅費	34	343	639	497		518	2,031								2,031
その他															
小 計	88,309	79,509	35,142	14,670	628	9,209	227,467	4,190	18,179					22,369	249,836

代表的な設備名と仕様 [既存(事業開始前)の設備含む]

J S T負担による設備：自動分注システム(パッカー社)、キャピラリー型DNAシーケンサー装置(A B I社)など

地域負担による設備：キャピラリー型DNAシーケンサー(島津製作所(社))、大型コンピュータシステムなど

※複数の研究課題に共通した経費については按分する。