

サブテーマ名：2 相同組換えによる高速ゲノム進化法の開発 小テーマ名：2b マウスES細胞における相同組換えクローン単離技術の改善(フェーズⅠのみ)
サブテーマリーダー：(独) 理化学研究所、上席研究員、柴田 武彦 (○:小テーマ代表者) 研究従事者：(財) 埼玉県中小企業振興公社、雇用研究員、宮城 聡、雇用技術員、高橋 淳子 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター、所長、村松 正實、教授、○奥田 晶彦
研究の概要、新規性及び目標 ① 研究の概要 マウスES細胞における相同組換え・ジーンコンバージョンを、ECFP蛍光タンパク質をコードする遺伝子の発現から、EGFPの発現に変換により検出するシステムを構築し、そのシステムを用いて、ジーンコンバージョンを誘導する物質を同定する。 ② 研究の独自性・新規性 ES細胞を用いた相同組換えは、ノックアウトマウス作成において、必須なステップである。哺乳動物等の高等生物における相同組換えは、酵母等の場合と比べ、一般にその頻度が極めて低く、かつ、1つの細胞の中でも、遺伝子座によって、その頻度に大きなばらつきが見られる。また、ES細胞を用いた再生医療の実現にとって、疾患の原因遺伝子を相同組換えにより、正常遺伝子と効率よく交換できるようになることが必要条件の一つである。但し、ターゲティングベクターを工夫することでES細胞における相同組換えの頻度を上昇させようといった試みは行われているものの、相同組換えの頻度を上昇させる効果を持つ物質の探索を目的とした研究は皆無であり、本研究はそのことを目標としている点で独自性があるといえる。 ③ 研究の目標 フェーズⅠ： マウスES細胞における相同組換え・ジーンコンバージョンを、ECFPからEGFPへの変換により検出できるシステムを構築する。 フェーズⅡ： 上記のシステムを用いて、トリコスタチン A 等、相同組換えを誘導する可能性がある物質をES細胞の培地に添加し、その効果を見る。
研究の進め方及び進捗状況 (目標と対比して) マウスES細胞において、ECFPを高発現し、かつ、その発現が細胞の継代とともに減弱しないクローンは得られたが、トリコスタチン A 非存在下、及び存在下、いずれにおいても、培養過程において、ECFPからEGFPへと発現が変換しているクローンを得ることができなかった。従って、このシステムを用いた相同組換え誘導物質のスクリーニングを行うことができなかった。
主な成果 具体的な成果内容： 特になし 特許件数：0件 論文数：1件 口頭発表件数：2件
研究成果に関する評価 1 国内外における水準との対比 2 実用化に向けた波及効果
残された課題と対応方針について 特になし

	J S T 負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合 計
	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	H 19	小計	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	H 19	小計	
人件費		5,547	9,271				14,818	492	7,790	5,910				14,192	29,010
設備費							0							0	0
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)		2,407	846				3,253	200	1,000	2,000				3,200	6,453
旅費		158	178				336							0	336
その他		357	518				875	24,338	581	581				25,500	26,375
小 計	0	8,469	10,813	0	0	0	19,282	25,030	9,371	8,491	0	0	0	42,892	62,174

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 :

地域負担による設備 :