

に遺伝子欠損をFACSにより検出できる。一方、Creリコンビネースは全身で発現させるため、hCMVプロモーターを使用し、トランスジェニックマウスを構築した(hCMV-Cre transgenic mouse)。その両者を交配し、実験に供した。

### C. 研究結果

Pig-aflox, hCMV-Cre(+)の雄マウスは胎生9日目ですでに致死であった。胎生9日目ではまだ十分に血液系の発生がみられれないので、Pig-aflox(+/-), hCMV-Cre(+)の雌マウスは、胎生18日まで生存し、その個体でPig-a遺伝子がCreの発現依存性に破壊されていることが確かめられた。この雌マウスはPig-a遺伝子がX染色体上である関係上、約50%の組織でGPI-アンカー型蛋白が欠損になるはずである。この胎児の肝臓(胎生期の造血の場)からGPI-アンカー陰性骨髄幹細胞を精製し、致死量の放射線照射したマウスへ移入し、GPI-アンカー陰性血液細胞を有する骨髄キメラを多数作成した。骨髄キメラマウスの末梢血のGPI-アンカー型蛋白の発現状況を生後一年にわたってモニターした。GPI-アンカー型蛋白陰性細胞は、1年以上にわたって検出できた。

### D. 結論、考察

Cre/loxPシステムと胎仔肝細胞移植を組み合わせることで血液系だけでGPI-アンカー欠損細胞を有するマウス個体が樹立できた。今後、このシステムを利用し、通常では致死性が強く血液系では解析できないような遺伝子についても機能解析できると期待される。

### E. 研究発表

1. Tsujimura, A., Shida, K., Kitamura, M., Nomura, M., Takeda, J., Tanaka, H., Matsumoto, M., Matsumiya, K., Okuyama, A., Nishimura, Y., Okabe, M., and Scya, T. Molecular cloning of a murine homologue of membrane cofactor protein (MCP, CD46): preferential expression in testicular germ cells. *Biochem. J.*, 330:163-168, 1998.
2. Watanabe, R., Inoue, N., Westfall, B., Taron, C.H., Orlean, P., Takeda, J., and Kinoshita, T. The first step of glycosylphosphatidylinositol biosynthesis is mediated by a complex of PIG-A, PIG-H, PIG-C, and GPI1. *EMBO J.*, 17:877-885, 1998.
3. Takahama, Y., Ohishi, K., Tokoro, Y., Sugawara, T., Yoshimura, Y., Okabe, M., Kinoshita, T., and Takeda, J. Functional competence of T cells in the absence of GPI-anchored proteins caused by T-cell specific disruption of Pig-a gene. *Eur. J. Immunol.*, 28:2159-2166, 1998.
4. Tomita, S., Inoue, N., Maeda, Y., Ohishi, K., Takeda, J., and Kinoshita, T. A homologue of *Saccharomyces cerevisiae* Dpm1p is not sufficient for synthesis of dolichol-phosphate-mannose in mammalian cells. *J. Biol. Chem.*, 273: 9249-9254, 1998.
5. Matsuki, M., Yamashita, F., Ishida-Yamamoto, A., Yamada, K., Kinoshita, C., Fushiki, S., Ueda, E., Morishima, Y., Tabata, K., Yasuno, H., Hashida, M.,

Iizuka, H., Ikawa, M., Okabe, M., Kondo, G., Kinoshita, T., Takeda, J. and Yamanishi, K. Defective stratum corneum and early neonatal death in mice lacking the gene for transglutaminase 1 (keratinocyte transglutaminase). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:1044-1049, 1998.

6. Takeda, K., Kaisho, T., Yoshida, N., Takeda, J., Kishimoto, T., and Akira, S. Stat3 activation is responsible for IL-6-dependent T cell proliferation through preventing apoptosis : Generation and characteraization of T cell specific Stat3-deficient mice. *J. Immunol.*, 161:4652-4660, 1998.

7. Akaishi, H., Takeda, K., Kaisho, T., Shineha, R., Satomi, S., Takeda, J., and Akira, S. Defective IL-2-mediated IL-2 receptor  $\alpha$  chain expression in Stat3-deficient T lymphocytes. *Int. Immunol.*, 10: 1747-1751, 1998.

8. Osuka, S., Takeda, J., Nagiec, M.M., Dickson, R.C., and Hirabayashi, Y. Assignment of sptlc2 to murine chromosome 12, resion E by in situ hybridization *Cytogenet. Cell. Genet.*, 82 : 222-223, 1998.

9. Takeda, J., Inoue, N., and Kinoshita, T. Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor biosynthesis Comprehensive Natural Products Chemistry vol 4. 305-318, 1998.

10. Nozaki, M., K. Ohishi, N. Yamada, T. Kinoshita, A. Nagy, and Takeda, J. Developmental abnormalities of

glycosylphosphatidylinositol-anchor deficient embryos revealed by *Cre/loxP* system *Lab. Invest.*, 79:293-299, 1999.

## F. 知的所有権の取得状況

1、特許

・発明の名称

遺伝子変異動物

・発明者

竹田潤二、武田雅俊

・提出日

平成10年1月8日