

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

（分担）研究報告書

ホモ変異体マウス ES 細胞株の樹立に関する研究

研究分担者 堀江 恭二 奈良県立医科大学・教授

研究要旨

遺伝子に変異の導入された細胞株は、遺伝子機能を解析する上で有用であるのみならず、創薬に向けた標的遺伝子の同定や疾患メカニズム解明のためのモデル系としても重要である。このような変異細胞を大量に資源化するために、我々が開発した手法をマウス ES 細胞へ適用して、遺伝子の両コピーに変異の導入されたホモ変異体 ES 細胞株を樹立した。さらに、これらのホモ変異体の遺伝子機能解析を行うことで、資源としての有用性を示した。

A. 研究目的

特定の遺伝子機能が破壊された細胞株は、創薬における標的遺伝子の探索や疾患メカニズム解明のためのモデル実験系として、極めて有用である。しかし、ヒトやマウスのような哺乳動物細胞では、遺伝子破壊の表現型を解析するには 2 コピー存在する遺伝子の両方を破壊したホモ変異体を取得する必要がある。従来の遺伝子破壊法では、多数の遺伝子に対して迅速にホモ変異体を単離することは困難であった。本研究では、我々が独自に開発したホモ変異体単離法をマウス ES 細胞へ適用し、創薬・疾患研究に有用な細胞資源を取得する。また、得られた細胞株を用いた遺伝子機能解析も行い、細胞資源としての有用性を示す。

B. 研究方法

我々は既に約 2,000 株のヘテロ変異体 ES 細胞株を取得済みである。これらのヘテロ変異体について、過去の文献を検索することにより、機能に関する情報の乏しい遺伝子や、疾患モデルの観点から興味深いと考えられる遺伝子を選定した。これらの遺伝子に対応するヘテロ変異体 ES 細胞に対して、我々が報告済みの手法（Nature Methods 8:1071-7, 2011）を用いて、細胞周期の 4N の時期における相同染色体間組換えを誘発し、ホモ変異体を誘発・単離した。また、得られた細胞株に対して、様々な分化誘導系を適用することで、初期分化に重要な遺伝子の機能解析を行った。

C. 研究結果

25 個の遺伝子についてホモ変異体 ES 細胞株を樹立した。また、ES 細胞の未分化維持に必須の

LIF の非存在下でも多能性を維持できる変異体を同定・解析し、再生医学への応用のための基礎的知見を得た。

D. 考察

今後は、遺伝子機能解析にとどまらず、創薬の標的遺伝子の同定へ向けた応用性についても検討を進めたい。

E. 結論

既に樹立済みの手法により、変異体の単離は順調に進行している。また、変異体を用いた遺伝子機能解析の有用性を示すこともできた。

F. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

Yoshida J., Horie K. Genome-wide comparative analyses of retroviral and DNA-type transposon vector integration sites in mouse embryonic stem cells. Implication for reprogramming study. 11th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research, 2013 June 12-15, Boston, USA.

G. 知的財産権の出願・登録状況

無し