様　式　Ｚ－７

平成２８年度科学研究費助成事業　実績報告書（研究実績報告書）

1．機関番号　1 4 6 0 3

2．研究機関名　奈良先端科学技術大学院大学

3．研究種目名　基盤研究(B)（一般）

4．研究期間　平成２５年度～平成２８年度

5．課題番号　2 5 2 9 0 0 3 4

6．研究課題名　標的細胞中で発現しない非コードＲＮＡ遺伝子をトラップする手法の開発

7．研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
1 0 2 2 1 7 5 6	イシダ　ヤスマサ 石田　靖雅	バイオサイエンス研究科	准教授

8．研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9．研究実績の概要

私たちの先行研究で用いたNMD抑制エレメントを改良し（RNAのレベルで形成される高次構造をより強いものにした）、トラップ・ベクター内のNEOの下流に組み込み、マウスES細胞を用いて遺伝子トラップを実施した。その結果、NEO部分とトラップされた遺伝子の融合型mRNAではNMDが回避されていることを確認することができた。さらに、トラップされた遺伝子の中に、従来よりも高頻度にIncRNA遺伝子（候補）が含まれることを確認することができた。平成28年度には、この完成した改良型ベクターを用いて重点的に遺伝子トラップを行い、トラップされたIncRNA遺伝子（候補）の発現パターンを解析した。既知遺伝子とは異なり、本研究で着目するIncRNA遺伝子には、関連するESTが存在しないことも多いため、米国NCBIのUniGeneデータベースなどを利用して、マウス体内における発現パターンを類推することは、予想通り難しかった。そのため、候補遺伝子ごとにPCR用プライマーを設計してRT-PCRを行い、発現部位を解析する必要があった。トラップされたIncRNA遺伝子（候補）の中には、RNAレベルの発現が確認できないものも存在した。トラップされたIncRNA遺伝子（候補）のうち、免疫系組織（胸腺、脾臓、リンパ節など）や神経系組織（脳や脊髄など）で特異的に発現するものを選別し、定法に従いノックアウトマウスを作製する、という当初の予定であったが、これまでのところ、免疫系組織や神経系組織に高度に限局した発現パターンを示すIncRNA遺伝子（候補）がトラップされたES細胞クローンは樹立されていない。今後はさらに遺伝子トラップ実験を追加して、そのようなES細胞クローンの樹立を目指す必要がある。

10．キーワード

(1) 遺伝子トラップ　(2) ES細胞　(3) 長鎖非コードRNA　(4) NMD

(5)　(6)　(7)　(8)

（注）・印刷に当たっては、Ａ４判（縦長）・両面印刷すること。

11. 現在までの進捗状況

（区分）

（理由）
28年度が最終年度であるため、記入しない。

12. 今後の研究の推進方策　等

（今後の推進方策）
28年度が最終年度であるため、記入しない。

（次年度使用額が生じた理由と使用計画）

（理由）
28年度が最終年度であるため、記入しない。

（使用計画）
28年度が最終年度であるため、記入しない。

（課題番号： 25290034 ）

（注）・印刷に当たっては、Ａ４判（縦長）・両面印刷すること。

13.研究発表（平成２８年度の研究成果）

〔雑誌論文〕　計（１）件／うち査読付論文　計（１）件／うち国際共著論文　計（０）件／うちオープンアクセス　計（１）件

著　者　名	論　文　標　題
Kotoku T, Kosaka K, Nishio M, Ishida Y, Kawaichi M, Matsuda E	CIBZ Regulates Mesodermal and Cardiac Differentiation of by Suppressing T and Mesp1 Expression in Mouse Embryonic Stem Cells

雑　誌　名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
Scientific Reports	有	6	2016	34188	－

掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）
10.1038/srep34188

オープンアクセス
オープンアクセスとしている（また、その予定である）

〔学会発表〕　計（１）件／うち招待講演　計（１）件／うち国際学会　計（０）件

発　表　者　名	発　表　標　題
石田靖雅	PD-1とがん、そして自己と非自己の識別

学　会　等　名	発表年月日	発　表　場　所
第104回 日本肺癌学会関西支部学術集会（招待講演）	2016年07月16日	薬業年金会館、大阪府大阪市

〔図書〕　計（０）件

著　者　名	出　版　社

書　名	発行年	総ページ数

14.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕　計（０）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

（課題番号： 25290034 ）

（注）・印刷に当たっては、Ａ４判（縦長）・両面印刷すること。

〔取得〕　計（０）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計（０）件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16.本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

（１）国際共同研究：－

17.備考

（課題番号： 25290034 ）

（注）・印刷に当たっては、Ａ４判（縦長）・両面印刷すること。