

様式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成28年度）

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(C)（一般） 4. 補助事業期間 平成28年度～平成30年度

5. 課題番号

1	6	K	0	8	5	8	7
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 マウス胚発生におけるメチル化DNA結合タンパク質CIBZの機能解析

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
00335481	マツダ エイシヨウ 松田 永照	バイオサイエンス研究科	助教

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

DNAメチル化機構は、哺乳類の初期胚の発生に大きく変化することが知られている。DNAメチル化酵素のノックアウトマウスが胎生致死であることから、初期胚発生におけるDNAメチル化が正常な胎発生に必須であることが考えられる。DNAメチル化はメチル化酵素とメチル化されたDNAに結合するタンパク質（MBP）より構成されているため、MBPも胚発生に重要であると考えられる。ところが、既知のMBPをコードする遺伝子の欠損マウスでは初期胚の発生に異常が見られないため、我々が同定した新規DNAメチル化結合タンパク質であるCIBZの機能解析を行った。Cre-loxPシステムを用いた条件付きベクターでCIBZのヘテロ接合体マウスの作製を試みたが、CIBZヘテロ接合体マウスが生まれていないため、CIBZハプロ不全による胎生致死であることが示唆された。本研究では、CIBZヘテロ接合体マウスが胎生致死かどうかを検証し、CIBZ遺伝子のマウス初期胚の発生における役割を明らかにする。今まで作製した条件付きマウス（flox-neo/+）ゲノム上に他の遺伝子の発現に著しい影響を与える可能性のneoカセットが存在するため、除去する必要がある。今回、このneoカセットを除去したマウス（flox/+）を作製した上で、CIBZヘテロ接合体マウスの作製を試みた。その結果、出生マウスの中にはCIBZヘテロ接合体マウスが存在しなかったことから、CIBZハプロ不全による胎生致死であることが明らかとなった。

10. キーワード

- | | | | |
|--------------|---------------|-----------|--------------------|
| (1) マウス初期胚発生 | (2) ヘテロ接合体マウス | (3) 胎生致死 | (4) メチル化DNA結合タンパク質 |
| (5) CIBZ | (6) Cre-LoxP | (7) ハプロ不全 | (8) |

11. 現在までの進捗状況

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

今まで作製したCIBZのflox-neo/+ マウスゲノム上のneoカセットが標的遺伝子や隣接する他の遺伝子の発現に影響をおよぼす可能性があるため、除去する必要がある。このカセットを除去するため、CIBZのflox-neo/+ マウスとFlpを発現するトランスジェニックマウスとの交配により、CIBZのflox/+ マウスの作製に成功した。
 CIBZハプロ不全による胎生致死を検証するため、CIBZのflox/+ マウスとCre を全身発現するマウスと交配させ、CIBZヘテロ接合体 (flox/+) マウスの有無を検証した。その結果出生マウスの中にはCIBZヘテロ接合体マウスが存在しなかった。
 胎仔死亡の時期を調べるため、CIBZのflox/+ マウスとCreマウスとの交配によって妊娠したマウスより各時期の胚を取り出して検証し、その結果、CIBZヘテロ接合体 (flox/+) 胎仔はE11.5以降では存在しないことが明らかとなった。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

CIBZヘテロマウスにより胎仔死亡の時期と原因を明らかにするため、CIBZのflox/+ マウスとCreマウスとの交配の匹数を増やして、CIBZハプロ不全による胎仔死亡の時期 (E6.5 ~ E10.5) と原因を特定する。
 胚発生ステージにおけるCIBZの発現と部位を明らかにする。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

Cre-ER (CAGG Cre-ERTM、Jackson Lab) マウスと抗体の発注はしていないため

(使用計画)

CIBZの欠損が心筋などに影響を与えるかどうかを検証するため、CIBZのflox/+ マウスとCre-ERマウスの交配させる。

(課題番号: 16K08587)

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(2 / 4)

13. 研究発表（平成28年度の研究成果）

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

著者名		論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）						
オープンアクセス						

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

発表者名		発表標題		
学会等名	発表年月日	発表場所		

〔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

〔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

--