

様式 C-7-1

平成 19 年度科学研究費補助金実績報告書 (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 萌芽研究      4. 研究期間 平成 18 年度 ~ 平成 19 年度
5. 課題番号 1 8 6 5 7 0 7 0
6. 研究課題名 トランスポゾンを用いたニワトリ胚細胞の半永久的遺伝子操作

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 1 8 3 8 5 7	カガナ タカハシ ヨシコ 高橋, 淑子	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
9 0 4 0 3 3 6 0	カガナ サイトウ ダイスケ 齋藤, 大介	バイオサイエンス研究科	助教
	カガナ		
	カガナ		
	カガナ		
	カガナ		

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字~800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字~800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

トリ胚を用いたエレクトロポレーション法は、さまざまな遺伝子を目的とする組織に導入する方法として極めて有効である。しかしながら、従来のエレクトロポレーション法の問題として、導入された遺伝子の発現が2~3日間しか維持されないことであった。これは導入された遺伝子が核内染色体に組み込まれないために、細胞の増殖に伴って遺伝子コピー数が減少し、やがては消失してしまうことが原因と考えられていた。我々はこれまでに、これらの問題を克服するために、小型魚類で用いられている Tol2 トランスポゾン法をトリ胚エレクトロポレーション法に応用し、導入遺伝子をトリゲノム内に安定的に組み込むことに成功している。今年度はさらにこの方法を改良し、我々が最近トリ胚で確立した Tet-on 法とを組み合わせ、ゲノム上に安定的に組み込まれた外来遺伝子の発現時期を人工的にコントロールできる手法を確立した。準備した plasmid は以下の通り：1) 目的とする遺伝子(たとえば EGFP)を TRE(Tetracycline-responsive element)によってドライブさせ、さらにこれらの発現カセットを Tol2vector に組み込んだ plasmid。2) rtTA-M2 (Dox 依存的に TRE に結合して転写を活性化させる因子をコードする)を組み込んだ Tol2vector。3) Tol2vector 上の遺伝子カセットがゲノムに組み込まれるために必要なトランスポゼースを発現させる CAGGS-TP。これら3種の plasmid を、エレクトロポレーション法を用いてトリ胚内に共同入し、さらに3日後に Dox を注入すると、EGFP の発現が開始された。これらの新規の方法を用いると、これまで不可能であった胚発生の後期過程におこる器官形成における遺伝子の機能の解析が可能となる。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 判縦長横書 1 枚)を添付すること。

10. キーワード

- (1) トランスポゾン      (2) エレクトロポレーション法      (3) トリ胚
- (4) Tet-on      (5) \_\_\_\_\_      (6) \_\_\_\_\_
- (7) \_\_\_\_\_      (8) \_\_\_\_\_      (裏面に続く)

## 11.研究発表（平成19年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（8）件

著者名	論文標題			
Sato, Y.	Notch signaling mediates the segmental specification of angioblasts in somites and their directed migration toward the dorsal aorta in avian embryos.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Developmental Cell</i>	有		2007	in press

著者名	論文標題			
Takahashi, Y.	Transposon-mediated stable integration and tetracycline-inducible expression of electroporated transgenes in chicken embryos.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Methods in Avian Embryology</i>	有	87	2007	in press

著者名	論文標題			
Takahashi, Y.	Somitogenesis as a model to study the formation of morphological boundaries and cell epithelialization.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Dev. Growth Differ.</i>	有		2007	in press

著者名	論文標題			
Sugio, M.	Exploration of embryonic origins of germline stem cells and neoblasts in <i>Enchytraeus japonensis</i> (Oligochaeta, Annelida).			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>GEP</i>	有	8	2008	227-36

著者名	論文標題			
Reza, H. M.	L-Maf regulates p27kip1 expression during chick lens fiber differentiation.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Differentiation</i>	有	75	2007	737-744

著者名	論文標題			
Reza, H. M.	Stage-dependent expression of Pax6 in optic vesicle/cup regulates patterning genes through signaling molecules.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Differentiation</i>	有	75	2007	726-736

著者名	論文標題			
Watanabe, T.	Tet-on inducible system combined with in ovo electroporation dissects multiple roles of genes in somitogenesis of chicken embryos.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Dev. Biol.</i>	有	305	2007	625-636

著者名	論文標題			
Sato, Y.	Stable integration and conditional expression of electroporated transgenes in chicken embryos.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Dev. Biol.</i>	有	305	2007	616-624

[学会発表] 計 ( 7 ) 件

発表者名	発表標 題	
Takahashi, Y.	Neural crest cell migration to the adrenal gland: CXCR4/SDF1 and BMP mediate guidance, while SF-1 is involved in target recognition.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
NAIST GCOE International Symposium Developmental Biology	2008.1.15-16	Nara, Japan

発表者名	発表標 題	
高橋淑子	体作りにおける細胞の社会 ～遺伝子から個体まで～.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本醸造学会大会 (招待講演)	2007. 9. 4-5	東京

発表者名	発表標 題	
高橋淑子	血管の発生とパターンニング.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第5回血液・血管オルビスシンポジウム (特別指名講演)	2007. 8. 25-26	東京

発表者名	発表標 題	
高橋淑子	バイオ研究の楽しさとは ～細胞の挙動を探る～	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
東洋紡バイオ財団設立25周年記念シンポジウム	2007. 6. 1	大阪

発表者名	発表標 題	
高橋淑子	Somitic contribution to the formation of dorsal aorta involves cell migration regulated by Notch and Ephrin.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第40回発生物学会第59回細胞生物学会合同大会	2007.5.28-30	福岡

発表者名	発表標 題	
Takahashi, Y.	Cell migration and vascular patterning in the body.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
4th NIBB-EMBL MEETING "CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY"	2007.5.24-27	Okazaki, Japan

発表者名	発表標 題	
Takahashi, Y.	STABLE INTEGRATION AND TET-ON INDUCIBLE EXPRESSION OF ELECTROPORATED TRANSGENES IN CHICKEN EMBRYOS.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
First International Meeting "The Chick as a model organism: genes, development and function"	2007.4.11-14	Barcelona, Spain

[図 書] 計 ( 0 ) 件

著 者 名	出 版 社		
	書 名	発 行 年	総ページ数

12. 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

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--