

平成21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 基盤研究(B)(一般) 4. 研究期間 平成21年度～平成23年度

5. 課題番号 2 1 3 1 0 1 2 8

6. 研究課題名 NMD抑制に基づく新しい遺伝子破壊法をTリンパ球の研究に応用する

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	フリガナ 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(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
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		

9. 研究実績の概要

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。

従来のポリ A・トラップ法では、確かに非発現遺伝子をトラップすることはできたが、ベクターが遺伝子の最後のイントロンに挿入された細胞のみが繰り返し単離された。しかし、UPATrap 法の創出により、ベクター挿入部位に関するこの著しい「偏り」が解消されたため、マウス ES 細胞中で全く発現(転写)されない遺伝子の機能を、ランダムな挿入型変異導入法によって「完全に」不活性化することが初めて可能となった。このアドバンテージを具体例で証明するため、ES 細胞などでは完全にシャットオフされているものの、マウス胸腺で特異的に発現する遺伝子がトラップされた ES 細胞クローンの探索を行った。

トラップした遺伝子(あるいはその候補)の RNA レベルの発現が、既に expressed sequence tag (EST)として確認されている場合には、ウェブ上で入手可能な公的情報から、それらの発現パターンを推察した。該当する EST の数が非常に少ない場合や、EST としての発現すら全く確認できていない塩基配列の場合には、遺伝子特異的なプライマーを設計し、RT-PCR により発現パターンの解析を行った。一部の遺伝子に関しては、その塩基配列に基づき独自の DNA アレイを作製し、それぞれの基本的な発現パターンを解析した(Matsuda, E. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 4170-4174, 2004)。これら複数の手法を併用することにより、平成21年度には、トラップされた約1,000個の遺伝子に関する発現プロファイリングを行った。その結果、胸腺特異的遺伝子がトラップされた ES 細胞株を約5種類同定することに成功した。

10. キーワード

- (1) 遺伝子トラップ (2) マウス ES 細胞 (3) nonsense-mediated mRNA decay
 (4) ノックアウトマウス (5) Tリンパ球 (6) 遺伝子発現
 (7) UPATrap (8) _____ (裏面に続く)

11. 研究発表（平成21年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 0 ）件 うち査読付論文 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

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

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

〔学会発表〕 計（ 0 ）件 うち招待講演 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	

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。

The NAISTrap project (http://bsw3.naist.jp/kawaichi/naistrap.html)
--