

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                          |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| ID No.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 236                                                      |
| 研究課題名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | ゲノム編集技術を用いた SOX2 発現抑制因子 p54 <sup>nr</sup> /NonO 欠損マウスの作製 |
| 研究代表者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 飯笹 久（島根大学・助教）                                            |
| 研究組織<br>受入教員<br>研究分担者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 吉田 進昭（東京大学医科学研究所・教授）<br>金廣 優一（島根大学・助教）<br>多田 納豊（島根大学・助教） |
| 研究報告書                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                          |
| <p>幹細胞特異的転写因子SOX2はES細胞やがん幹細胞集団に高発現し、自己複製や多分化能の維持に重要な役割を担っている。申請者は最近、乳がん細胞株におけるSOX2発現抑制因子として、p54<sup>nr</sup>/NonO (NonO)を同定した。NonO及びそのファミリー遺伝子SFPQ及びPSPC1は細胞分化を誘導するが、3つの遺伝子は多くの機能を重複し、単独の遺伝子欠損マウスでは表現型が出ない可能性がある。更にSOX2の発現が上昇すると胎性致死となる可能性もあるが、これら遺伝子欠損マウスはいまだ報告がなかった。CRISPR-Cas9は細菌のファージに対する対抗システムであり、RNA配列依存的に特定のDNA配列を切断する。これを応用することで、短時間に遺伝子欠損生物が作製されており、また同時に複数の遺伝子をノックアウトしている(ゲノム編集技術)。<b><u>本研究では、ゲノム編集技術を用いてSOX2発現抑制因子p54<sup>nr</sup>/NonO欠損マウスの作製を試みた。</u></b></p> <p>まず、ゲノム編集技術の実験系を確立するために、SOX2の機能解析が進んでいるヒト乳がん細胞株MCF-7、遺伝子導入効率が高いヒト細胞株HEK293などに、SOX2に対するguide RNA発現ベクター及びCas9発現ベクターを遺伝子導入した。その結果、Surveyor Assayによりゲノム編集を確認できた。同様に、数種類の遺伝子についてゲノム編集を確認できた。そこで、マウスNIH3T3細胞株を用いて、p54<sup>nr</sup>及びPSPC1のゲノムを試みたところ、ゲノム編集を行うことができるguide RNAを複数確認できた。しかしながら、同時期に2遺伝子(p54<sup>nr</sup>, PSPC1)のダブルノックアウトマウスが他グループにより論文報告されたため(受精後早期の死亡が予測される)、ノックアウトマウスの作成を中止した。現在、幹細胞に関与する遺伝子に対して、ゲノム編集技術を応用したマウスへの点変異導入を、平成27年度の共同利用研究として申請している。</p> |                                                          |