

ID No.	231
研究課題名	内在性遺伝子発現の制御を可能とする新規ノックインマウスによるポリコーム遺伝子 Bmi1 の成体幹細胞の未分化状態維持機構の解明
研究代表者	森 泰昌 (国立がん研究センター・研究員)
研究組織 受入教員 研究分担者	吉田 進昭 (東京大学医科学研究所・教授)
研究報告書	
<p>これまで De-stabilized Domain(DD)をノックインすることによりターゲット蛋白発現の可逆的コントロール可能な新たなマウスの作成を目指し、コンストラクトベクターの作成を行った。まず、これらのコンストラクトが実際に働くことを評価、確認するコントロールとして GFP-DD 融合蛋白と CreERT2 コンストラクトを結合させた発現ベクター(pGFP-DD-IRES-CreERT2)を作成・細胞に導入し、in vitro での評価を行った。その結果、DD のリガンドである Trimetoprim(TMP)を投与することにより、GFP 蛋白がプロテオソームによる分解を回避し、TMP 濃度依存的・可逆的に蛋白発現をコントロールできることを確認した。さらにこれらの細胞では、同時に CreERT2 蛋白が発現することを確認した。マウス作成ベクターは、Bmi1 未分化維持機構を獲得するための重要なターゲットと考えられる YBX1 分子の Coding sequence3'末端領域に DD-IRES-CreERT2 をノックインするベクターを作成した。このベクターを医科学研究所吉田研究室において、C57BL/6 系統 ES 細胞に相同組換えとスクリーニングを行い目的のゲノム領域に導入されているクローンを樹立した。この ES 細胞クローンをからキメラマウスの産出を得た。さらに交配を進めジャームライントランスミッションが確認された。現在このマウスの系統の維持を行い、産出仔を得た。しかしながらホモマウスの産出仔を得るに至らず、ヘテロマウスによる解析を進めている。ヘテロマウスにおける解析では、ノックインマウスにの創傷モデルならびに発がん物質である、4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO)を飲水に添加することによる発がんモデルでは、粘膜上皮再生と癌発がんは Bmi1 と YBX1 の共発現が必要であることが示唆された。現在論文投稿準備中である。</p>	