

ID No.	2047
研究課題名	遺伝子改変マウスを用いた造血器腫瘍発症機構の解析
研究代表者	本田 浩章 (東京女子医科大学・教授)
研究組織	<p>受入教員 北村 俊雄 (東京大学医科学研究所・教授)</p> <p>研究分担者 世良 康如 (東京女子医科大学・博士研究員)</p> <p>宮川 佳彦 (東京女子医科大学・技術員)</p> <p>小泉 美穂 (東京女子医科大学・技術員)</p> <p>中田 雄一郎 (広島大学・助教)</p> <p>合山 進 (東京大学医科学研究所・准教授)</p> <p>浅田 修平 (東京大学医科学研究所・大学院生)</p> <p>林 康貴 (東京大学医科学研究所・大学院生)</p>
研究報告書	
<p>本申請では、ABCトランスポーターの一つであるABCG2のノックアウト(KO)マウス、およびAsxl1のリン酸化修飾部位であるセリンをアラニンに置換したノックイン(KI)マウスを作製し、造血制御及び造血器腫瘍の発症・進展におけるABCG2およびAsxl1リン酸化の生理的意義を明らかにすることを目的とする。</p> <p>ABCG2のKOマウスについては、exon2の内部に2つのgRNAの標的部位を設定した。この配列に従いcrRNA#1とcrRNA#3を作製し、これらをtracrRNAおよびCas9蛋白質と混合したものをC57BL/6マウスの受精卵前核に注入し、KOマウス作製を行なった。crRNA#1については1匹の4塩基欠失のヘテロKOマウスが得られ、このマウスについて体外受精と受精卵凍結を行ない、東京大学医科学研究所の動物実験施設に送付し個体化を行なった。凍結胚の融解・移植で得られた産仔10匹中8匹でヘテロKOマウスを得てgermline transmission(GLT)を確認した。crRNA#3についてはホモKOマウス4匹(全て11塩基欠失)、ヘテロKOマウス4匹(3匹が11塩基欠失&1塩基挿入、1匹が7塩基欠失&21塩基欠失)を得た。このうち、11塩基欠失&1塩基挿入のヘテロマウスについて体外受精と受精卵凍結を行ない、東京大学医科学研究所の動物実験施設に送付し個体化を行なった。凍結胚の融解・移植で得られた産仔20匹中9匹で11塩基欠失のヘテロKOマウスを得て、こちらもGLTを確認した。</p> <p>Asxl1 KIマウスについては、東京大学医科学研究所の受け入れグループ500番目のセリン残基をアラニンに変異させたS500A KIマウス作製の依頼を受けている。crRNAの部位を決定し、ターゲット配列を含むPCR産物をtemplateとしたin vitro digestionで目的部位切断が確認された。KI用のreplacement ssODNが到着したので、これからインジェクションを行う予定である。</p>	