

『学会開催報告』

第28回生命工学トレーニングコース 「遺伝子工学基礎技術コース」 /ゲノム機能解析分野サイエンス セミナー

The 28th Research training course for life
science and medical science

金沢大学学際科学実験センターゲノム機能解析分野
堀 家 慎 一

去る平成27年7月14日～17日、金沢大学遺伝子研究施設および金沢大学医学図書館十全記念スタジオにおいて第28回生命工学トレーニングコース「遺伝子工学基礎技術コース」/ゲノム機能解析分野サイエンスセミナーが開催されました。金沢大学学際科学実験センターでは、遺伝子研究施設、実験動物研究施設、アイソトープ総合研究施設が持ち回りで、毎年3回「生命工学トレーニングコース」を開催しておりますが、今回は遺伝子研究施設が担当として「遺伝子工学・基礎技術コース」を開催いたしました。本年は、定員を超える応募の中、学内の教員、博士研究員、大学院生を中心に幅広い年代、経歴の方々にお集まりいただき、全4日間に渡り下記の実験・実習を執り行いました。今回の生命工学トレーニングコースでは、遺伝子工学における基礎的な技術に加え、「動物細胞への遺伝子導入法」を利用した2つの先進的遺伝子工学技術(ゲノム編集技術CRISPR/Cas9とタグ付きタンパク質を利用したプルダウンアッセイ)の習得を目的としました。ゲノム編集技術は近年開発された新しい遺伝子改変技術であり、ES細胞などの幹細胞だけでなく、HeLa細胞や293T細胞といった体細胞でも特別な機器や技術を使うことなく、容易に遺伝子改変を可能とします。また、CRISPR/Cas9システムに代表されるgRNA(ガイドRNA)を利用したゲノム編集技術は単に遺伝子欠損細胞の樹立から遺伝子機能解析への応用に留まらず、将来的に遺伝子治療への応用が期待される次世代技術の一つでもあります。今回のトレーニングコースでは、ゲノム編集技術の一つであるCRISPR/Cas9システムのプラスミド構築とCRISPR/Cas9システムにより生じた遺伝子変異の検出方法を中心に概説・実習を行いました。また、タグ付きタンパク質を利用したプルダウンアッセイでは、タグ付きタンパク質と相互作用するタンパク質の同定が可能であり、機能未知のタンパク質の働きを知る上で非常に重要な情報を得ることが可能となります。実際に、我々の遺伝子研究施設では受託解析としてタンパク質の質量分析を請け負っており、本トレーニングコースで学んだプルダウンアッセイを利用し抽出されたタンパク質はすぐに同定可能となります。今回のトレーニングコースでは、プロメガ(株)、及びかずさDNA研究所が分配しているHaloTagタンパク質と相互作用するタンパク質をHaloTagリガンドにてプルダウンし、SDS-PAGEで分離する工程を中心に実習を行いました。

このように、本トレーニングコースでは最先端の生命科学における技術習得に取り組むとともに、一般的な実験技術の基本原則や実験上の注意事項等の理解を深め、遺伝子工学の基本技術の修得を目指しました。

また本年は、1名の外部講師の方に特別講演をお願いいたしました。特別講演では、中部大学の上田潤助教に「腫

瘍形成過程、発生過程でのエピジェネティクス・クロマチン動態解析」の題目でご講演いただきました。本特別講演では、まず低酸素環境によって発現が誘導され、機能的に拮抗した作用のあるヒストン・リジン・脱メチル化酵素Jmjd1a(別名Jhdm2a, Kdm3a)とヒストン・リジン・メチル化酵素G9a(別名Ehmt2)について、これらが腫瘍形成過程においてどのように機能するのを紹介していただきました。ヒストン修飾酵素は、エピジェネティクスの根幹をなす主要な酵素の一つであり、近年、精力的に機能解析が進んでいる分子でもあります。本特別講演では、低酸素という環境要因によりヒストン修飾酵素の発現が亢進するという大変興味深い知見を発表され、且つその発現亢進により腫瘍増殖が誘導される分子メカニズムを提唱されました。また、特別講演後半部分ではDNAのメチル化修飾の動態を解析するために上田先生が開発されたレポーター・マウス(メチロームマウス: **MethylRO**)について紹介されました。メチロームマウスは、メチル化CpG結合タンパク質であるMBD1のメチル化結合ドメイン(MBD)と赤色蛍光タンパク質の融合タンパク質を全身で発現するようにROSA26遺伝子座にノックインしたトランスジェニックマウスであり、ライブイメージング技術と組み合わせることで、発生・分化の過程でダイナミックに変化するDNAメチル化をモニターすることが可能となります。特別講演では、このメチロームマウスを用いてメチル化DNAが集積するヘテロクロマチン構造がES細胞樹立過程においてダイナミックに変化することを捉えた研究を紹介していただきました。

このように、上田潤先生がご講演された内容は大変興味深いエピジェネティクスの基礎研究であり、活発な議論も行われました。特に、本トレーニングコースに参加された大学院生・博士研究員を含めた若い世代によるディスカッションは、研究教育にとって極めて重要であり、本トレーニングコースに参加した方々から将来に豊かな研究者が生まれることを期待いたします。

最後に本生命工学トレーニングコース「遺伝子工学基礎技術コース」/ゲノム機能解析分野サイエンスセミナー開催にあたりましてご支援、ご協力を賜りました金沢大学関係各位、最後になりましたが金沢大学十全医学会からのご後援に対しまして改めまして心より御礼を申し上げます。

