

## [ 1 ] 外部評価発表会資料

**遺伝子改变動物分野  
(実験動物研究施設)**

## 実験動物研究施設の研究教育支援と社会貢献

教員：成瀬智恵，神村栄吉，橋本憲佳，浅野雅秀  
技術職員：中村由季子，内本淳，青木陽平，杉原一司

利用状況の推移（\*2012年度の数字は11月13日現在の数字，以下同様）

	2009年度	2010年度	2011年度	2012年度*
利用課題数	239	245	249	266
利用登録者総数	549	580	613	618
実入館者数	482	522	492	545
延べ入館数（宝町施設）	45,025	37,870	32,445	未確定
延べ入館数（角間分室）	—	9,738	8,184	未確定

利用者講習会（橋本，成瀬，神村）

2009年度：春期3回・臨時5回（245名），2010年度：春期5回・臨時8回（255名）  
2011年度：春期5回・臨時5回（312名），2012年度\*：春期5回・臨時3回（137名）

発生工学研究支援（中村，青木，杉原，成瀬，神村，橋本，浅野）

	2009年度	2010年度	2011年度	2012年度*
受精卵の凍結保存（100個）	23	1	20	5
受精卵移植によるクリーニング	6	20	29	4
体外受精からのマウス作成	1	3	1	0
凍結受精卵からのマウス作成	5	18	16	2
精子の凍結保存	0	1	0	0

学内委員会委員（施設業務に関連）

動物実験委員会委員：神村，橋本，浅野  
遺伝子組換え実験安全委員会委員：浅野，微生物安全管理委員会委員：浅野

共同研究（杉原，成瀬，吉原，浅野）

2009年度：学内12件，国内16件，海外4件，発表論文：5報  
2010年度：学内10件，国内14件，海外4件，発表論文：3報  
2011年度：学内11件，国内14件，海外4件，発表論文：1報  
2012年度：学内10件，国内13件，海外6件，発表論文：6報

生命工学トレーニングコース—発生工学・基礎技術コース（全員）

第13回（07.11.11-13）（学外2名，学内8名），第15回（10.11.10-12）（学外1名，学内4名）  
第18回（11.11.12-14）（学外6名，学内4名），第22回（12.11.7-9）（学外1名，学内8名）

センター主催の公開講座・シンポジウム（全員）

第3回センターシンポジウム「動物の行動から学ぶ認知・コミュニケーション機能」（09.11.5）

21世紀COE「革新脳科学」関連（吉原，浅野）

金沢大学創基150年記念「社会性認識」学際脳科学シンポジウム（COE最終報告会）（09.11.5-7）

国立大学法人動物実験施設協議会関連（浅野，橋本，中村他）

第37回国立大学法人動物実験施設協議会総会（11.5.13）  
平成24-25年度国立大学法人動物実験施設協議会 会長校

北陸実験動物研究会（全員，金沢大学での開催）

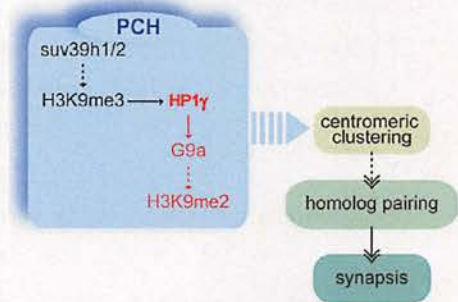
第35回研究会（09.4.18），第37回研究会（10.6.5）  
第40回研究会（11.4.9），第42回研究会（12.4.28）

## 研究概要

遺伝子改変動物分野では、発生工学的手法を駆使して様々なタイプの遺伝子改変マウスを作製し、個々の遺伝子の生体内での機能解析を行なっている。特にこの4年間はヒストン修飾 (HP1 $\gamma$  と Jmjd3) と糖鎖修飾 ( $\beta$ 4GalT-5 と GNE) に関連する遺伝子について、発生過程、脳神経系、腎臓疾患での役割を解析した。評価発表会では HP1 $\gamma$  の研究について報告させていただく予定である。

### 1) ヒストン修飾因子の発生過程での解析 (成瀬, 阿部, 柴田, 川口, 坂西, 加藤, 西内, 浅野)

- HP1 $\gamma$  はヒストン H3 のメチル化した 9 番目の Lys (H3K9me) に結合するエピジェネティクス制御因子の一つである。HP1 $\gamma$  の変異マウスは雌雄共に不妊であり、その生殖細胞は減数分裂期に停止した。HP1 $\gamma$  は H3K9 のメチル化を介して相同染色体の対合に重要な役割を果たしていることを明らかにした (右図, Development, 2011)。一方、HP1 $\gamma$  欠損胚は発生初期よりすでに始原生殖細胞 (PGC) が減少しており、HP1 $\gamma$  は PGC の細胞周期、特に G1 から S 期への移行に重要であることを明らかにした (Biol Reprod, 2011)。



- 転写の抑制性マークと考えられている H3K27me3 の脱メチル化酵素である Jmjd3 の欠損マウスを作出したところ、出生直後に致死となり、胎仔は脊椎と肋骨の前方へのホメオティック変異が観察された。Jmjd3 欠損胚では体軸形成を制御している Hox 遺伝子群の発現が減少しており、その周辺の H3K27me3 が脱メチル化されていないことから、Jmjd3 は H3K27 のメチル化を制御することにより、Hox 遺伝子の発現を制御していることを明らかにした (Manuscript submitted)。

### 2) 糖鎖関連遺伝子欠損マウスを用いた糖鎖機能の解析

(西江, 伊藤, 吉原, 杉原, 引持, 高垣, 牧野, 田畑, 佐武, 成瀬, 神村, 橋本, 浅野)

- ガラクトース転移酵素の  $\beta$ 4GalT-5 欠損マウスは発生初期に致死となり、胚自身よりは胚体外組織の異常が致死の原因であることを明らかにした。また、 $\beta$ 4GalT-5 は糖タンパク質ではなく、スフィンゴ糖脂質であるラクトシルセラミド (LacCer) を合成する酵素であることを明らかにした (Glycobiology, 2010)。
- 神経前駆細胞特異的に Cre を発現する Nestin-Cre マウスを用いて脳神経系特異的  $\beta$ 4GalT-5 欠損マウスを作出した。このマウスは正常に出生・成長し、外見上の異常は見られなかったため、テストバッテリー方式の行動実験を実施した。その結果、注意機能に障害があり新奇環境での活動性が増加していた。LacCer はミエリン鞘の形成に重要な GM3 や GD3 の生合成起点となるが、ミエリン鞘の形成を担うタンパク質の発現に変動が見られ、ミエリン鞘の異常が示唆された (Manuscript in preparation)。
- 縁取り空砲型遠位型ミオパチー (DMRV) の原因遺伝子であるシアル酸合成酵素の GNE の点変異マウスを作出したところ、骨格筋の異常は見られず、予想に反して腎臓に障害を発生した。出生早期から顕著なタンパク尿が観察され、糸球体濾過膜の形成に重要な Podocalyxin などの低シアル化が糸球体濾過機能の破綻を生じ、ネフローゼ症候群様の病態を発症した。さらに胎生期よりシアル酸を投与することで発症を抑制できることも示した (PLoS ONE, 2012)。

## 教育活動

学部教育：共通教育科目前期「バイオテクノロジー」を分担 (1 コマ)

：医学類 2 年後期「動物実験と再生医学」を分担 (4 コマ)

：医学類 3 年後期「基礎配属」で 1 名受入

大学院教育：医学系研究科修士課程「動物実験学演習」(必修) を担当 (6 コマ程度)

：医学系研究科博士課程「基礎系教育セミナー」「遺伝子改変動物学特論」

「発生工学基礎技術コース」「Up-to-date セミナー」など

：連合大学院小児発達学研究科「行動・情動神経科学」「認知行動生物学演習」を分担

：修士学位取得者：5 名、博士学位取得者：3 名 (2009～2012 年度, 含予定者)

## 研究業績 (2009年～2012年)

遺伝子改変動物分野 浅野雅秀

### (1) 学術論文

- 1) Ueno, M., Itoh, M., Sugihara, K., Asano, M., and Takakura, N. Both alleles of PSF1 are required for maintenance of pool size of immature hematopoietic cells and acute bone marrow regeneration. *Blood* 113: 555-562, 2009.
- 2) \*Chan, C.-B., \*Abe, M., Hashimoto, N., Hao, C., Williams, I.R., Liu, X., Nakao, S., Yamamoto, A., Li, S.-Y., Hara-Nishimura, I., #Asano, M., and #Ye, K. Mice lacking asparaginyl endopeptidase (AEP) develop disorders resembling hemophagocytic syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 468-473, 2009. \*equal contribution. #equal correspondence.
- 3) \*Yoshihara, T., \*Sugihara, K., Kizuka, Y., Oka, S., and Asano, M. Learning/memory impairment and reduced expression of the HNK-1 carbohydrate in  $\beta$ 4-galactosyltransferase-II-deficient mice. *J. Biol. Chem.* 284: 12550-12561, 2009. \*equal contribution.
- 4) Irie, N., Takada, Y., Watanabe, Y., Matsuzaki, Y., Naruse, C., Asano, M., Iwakura, Y., Suda, T., and Matsuo, K. Bidirectional signaling through ephrinA2-EphA2 enhances osteoclastogenesis and suppresses osteoblastogenesis. *J. Biol. Chem.* 284: 14637-14644, 2009.
- 5) Takahashi, I., Noguchi, N., Nata, K., Yamada, S., Kaneiwa, T., Mizumoto, S., Ikeda, T., Sugihara, K., Asano, M., Yoshikawa, T., Yamauchi, A., Shervani, N.J., Uruno, A., Kato, I., Unno, M., Sugahara, K., Takasawa, S., Okamoto, H., and Sugawara, A. Important role of heparan sulfate in postnatal islet growth and insulin secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 383: 113-118, 2009.
- 6) Tamase, A., Muraguchi, T., Naka, K., Tanaka, S., Kinoshita, M., Hoshii, T., Ohmura, M., Shugo, H., Ooshio, T., Nakada, M., Sawamoto, K., Onodera, M., Matsumoto, K., Oshima, M., Asano, M., Saya, H., Okano, H., Suda, T., Hamada, J., and Hirao, A. Identification of tumor-initiating cells in a highly aggressive brain tumor using promoter activity of nucleostemin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 17163-17168, 2009.
- 7) Du, W., Takuwa, N., Yoshioka, K., Okamoto, Y., Gonda, K., Sugihara, K., Fukamizu, A., Asano, M., and Takuwa, Y. S1P2, the G protein-coupled receptor for sphingosine-1-phosphate, negatively regulates tumor angiogenesis and tumor growth in vivo in mice. *Cancer Research* 70: 772-781, 2010.
- 8) Zhao, Y., Zhang, X., Guda, K., Lawrence, E., Sun, Q., Watanabe, T., Iwakura, Y., Asano, M., Wei, L., Yang, Z., Zheng, W., Dawn Dawson, D., Willis, J., Markowitz, S.D., Satake, M., and Wang, Z. Identification and functional characterization of paxillin as a target of protein tyrosine phosphatase receptor T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 2592-2597, 2010.
- 9) Izumikawa, T., Kanagawa, N., Watanabe, Y., Okada, M., Saeki, M., Sakano, M., Sugahara, K., Sugihara, K., Asano, M., and Kitagawa, H. Impairment of embryonic cell division and glycosaminoglycan biosynthesis in glucuronyltransferase-I deficient mice. *J. Biol. Chem.*, 285: 12190-12196, 2010.
- 10) Kato, Y., Kubo, Y., Iwata, D., Kato, S., Sudo, T., Sugiura, T., Kagaya, T., Wakayama, T., Hirayama, A., Sugimoto, M., Sugihara, K., Kaneko, S., Soga, T., Asano, M., Tomita, M., Matsui, T., Wada, M., and Tsuji, A. Gene knockout and metabolome analysis of carnitine/organic cation transporter OCTN1. *Pharm. Res.*, 27: 832-840, 2010.
- 11) Nishie, T., Hikimochi, Y., Zama, K., Fukusumi, Y., Ito, M., Yokoyama, H., Naruse, C., Ito, M. and Asano, M.  $\beta$ 4-Galactosyltransferase-5 is a lactosylceramide synthase essential for mouse extra-embryonic development. *Glycobiology*, 20: 1311-1322, 2010.
- 12) Yamamoto, Y., Harashima, A., Saito, H., Tsuneyama, K., Munesue, S., Motoyoshi, S., Han, D., Watanabe, T., Asano, M., Takasawa, S., Okamoto, H., Shimura, S., Karasawa, T., Yonekura, H., and Yamamoto, H. Septic shock is associated with receptor for advanced glycation end products ligation of LPS. *J. Immunol.* 186: 3248-3257, 2011.
- 13) Abe, K., Naruse, C., Kato, T., Nishiuchi, T., Saitou, M., and Asano, M. Loss of heterochromatin protein 1y

reduces the number of primordial germ cells via impaired cell-cycle progression. *Biol. Reprod.* 85: 1013-1024, 2011.

- 14) \*Takada, Y., \*Naruse, C., \*Costa, Y., Shirakawa, T., Tachibana, M., Sharif, J., Kezuka-Shiotani, F., Kakiuchi, D., Masumoto, H., Shinkai, Y., Ohbo, K., Peters, A.H., Turner, J.M., #Asano, M. and #Koseki, H. HP1 $\gamma$  links histone methylation marks to meiotic synapsis in mice. *Development* 138: 4207-4217, 2011. \*equal contribution. #equal correspondence.
- 15) Kouno, T., Kizuka, Y., Nakagawa, N., Yoshihara, T., Asano, M. and Oka, S. Specific enzyme complex of  $\beta$ -1,4-galactosyltransferase-II and GlcAT-P facilitates biosynthesis of N-linked HNK-1 carbohydrate. *J. Biol. Chem.* 286: 31337-31346, 2011.
- 16) Ito, M., Sugihara, K., Asaka, T., Toyama, T., Yoshihara, T., Furuichi, K., Wada, T. and Asano, M. Glycoprotein hyposialylation gives rise to a nephrotic-like syndrome that is prevented by sialic acid administration in GNE V572L point-mutant mice. *PLoS ONE* 7: e29873, 2012.
- 17) Shinzaki, S., Iijima, H., Fujii, H., Kuroki, E., Tatsunaka, N., Inoue, T., Nakajima, S., Egawa, S., Kanto, T., Tsujii, M., Morii, E., Takeishi, S., Asano, M., Takehara, T., Hayashi, N. and Miyoshi, E. Altered oligosaccharide structures reduce colitis induction in mice defective in  $\beta$ -1,4-galactosyltransferase. *Gastroenterology* 142: 1172-1182, 2012.
- 18) Sato, A., Ohtaki, H., Tsumuraya, T., Song, D., Ohara, K., Asano, M., Iwakura, Y., Atsumi, T., and Shioda, S. Interleukin-1 participates in the classical and alternative activation of microglia/macrophages after spinal cord injury. *J Neuroinflammation* 9: 65, 2012.
- 19) Yamaguchi, K., Shiozaki, K., Moriya, S., Koseki, K., Wada, T., Tateno, H., Sato, I., Asano, M., Iwakura, Y., and Miyagi, T. Reduced susceptibility to colitis-associated colon carcinogenesis in mice lacking plasma membrane-associated sialidase. *PLoS ONE* 7: e41132, 2012.
- 20) Sugahara, D., Kaji, H., Sugihara, K., Asano, M., and Narimatsu, H. Large-scale identification of target proteins of a glycosyltransferase isozyme by Lectin-IGOT-LC/MS, an LC/MS-based glycoproteomic approach. *Scientific Reports*, 2: 680, 2012.
- 21) Yoshioka, K., Yoshida, K., Cui, H., Wakayama, T., Takuwa, N., Okamoto, Y., Du, W., Qi, X., Asanuma, K., Sugihara, K., Aki, S., Miyazawa, H., Biswas, K., Nagakura, C., Ueno, M., Iseki, S., Schwartz, J. R., Okamoto, H., Sasaki, T., Matsui, O., Asano, M., Adams, H. R., Takakura, N., and Takuwa, Y. Essential role of endothelial class II PI3K-C2a in angiogenesis and vascular barrier function. *Nat. Med.* 18: 1560-1569, 2012.
- 22) Liu, H-X., Lopatina, O., Higashida, C., Fujimoto, H., Akther, S., Inzhutova, A., Liang, M., Zhong, J., Tsuji, T., Yoshihara, T., Sumi, K., Ishiyama, M., Ma, W-J., Ozaki, M., Yagitani, S., Yokoyama, S., Mukaida, N., Sakurai, T., Hori, O., Yoshioka, K., Hirao, A., Kato, Y., Ishihara, K., Kato, I., Okamoto, H., Cherepanov, S.M., Salmina, A., Hirai, H., Asano, M., Brown, D.A., Nagano, I., and Higashida, H. Displays of mouse pup retrieval as paternal parental behaviour following communicative interaction with maternal mates. *Nat. Commun.* In press.

## (2) 総説, 著書, その他

- 1) 浅野雅秀 「IgA 腎症の発症には糖鎖がかからんでいる」 第3の生命鎖：糖鎖の謎が今、解る クバプロ 123-130, 2009.
- 2) 浅野雅秀, 橋本憲佳 「Asparaginyl endopeptidase 欠損マウスにおける血球貪食症候群様病態について」 血液内科 Vol.63, No.6, 634-639, 2011/12.

## (3) 学会発表

### 国際学会

- 1) Izumikawa, T., Kanagawa, N., Watamoto, Y., Okada, M., Saeki, M., Sakano, M., Sugahara, K., Sugihara, K., Asano, M. and Kitagawa, H. "Impairment of Embryonic Cell Division and Glycosaminoglycan Biosynthesis in Glucuronyltransferase-I-Deficient Mice." The 25<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2010), Tokyo,

Japan, August, 2010.

- 2) Abe, K., Naruse, C., Kato T., Nishiuchi, T., Saitou, M. and Asano, M. "The role of heterochromatin protein 1 (HP1) in primordial germ cells." Mouse Development, Genetics & Genomics Meeting 2010, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, USA, September, 2010.
- 3) Yoshihara, T., Sugihara, K., Kizuka, Y., Oka, S. and Asano, M. "Learning/memory impairment and reduced expression of the HNK-1 carbohydrate in  $\beta$ -1,4-Galactosyltransferase-2-deficient mice." The Society for Neuroscience Annual Meeting 2010 (Neuro2010), Sandiego, USA, November, 2010.
- 4) Asano, M. "Glycosylation of glycoproteins and glycolipids plays important roles in the nervous system and embryogenesis." 2010 Chonbuk-Kanazawa Joint Symposium, Jeonju, Korea, October, 2010. Invited.
- 5) Oka, S., Kizuka, Y., Nakagawa, N., Yoshihara, T., Asano, M. and Kouno, T. "Functional enzyme complex of  $\beta$ -1, 4-galactosyltransferase-II and GlcAT-P in HNK-1 biosynthesis." Glyco21 XXI International Symposium on Glycoconjugates, Vienna, Austria, August, 2011.
- 6) Ito, M., Asaka, T., Sugihara, K., Yoshihara, T., Wada, T. and Asano, M. "Hyposialylation of glycoproteins in the UDP-N-acetylglucosamine-2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase (GNE) point mutant mice gives rise to a renal impairment that is prevented by sialic acid administration." Kidney Week 2011, Philadelphia, USA, November, 2011.
- 7) Yoshihara, T., Suzuki, H., Nishie, T., Hikimochi, Y., Kamimura, E., Okino, N., Ito M. and Asano, M. "Reduction of lactosylceramide synthase activity and behavioral abnormalities in brain-specific  $\beta$ 4-galactosyltransferase-5-deficient mouse." The 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, Spain, July, 2012.

#### 国内学会

- 1) 阿部可奈恵, 成瀬智恵, 柿内太, 浅野雅秀 「始原生殖細胞の発生と分化における HP1 $\gamma$  の機能解析」第 56 回日本実験動物学会, ポスター発表, 2009 年 5 月
- 2) 成瀬智恵, 高田幸, Yael Costa, 柿内太, James Turner, 古関明彦, 浅野雅秀 「HP1 $\gamma$  は第一減数分裂期における精母細胞のヒストンメチル化に必須である」第 56 回日本実験動物学会, 口頭発表・ポスター発表, 2009 年 5 月
- 3) 安陪道代, 橋本憲佳, 中尾眞二, 山本章嗣, 西村いくこ, 浅野雅秀 「AEP/Legumain 欠損マウスは血球貪食症候群に類似した病態を呈す」第 56 回日本実験動物学会, 口頭発表・ポスター発表, 2009 年 5 月
- 4) 吉原亨, 杉原一司, 浅賀知也, 浅野雅秀 「テストバッテリー方式による GNE 点変異マウスの行動解析」第 56 回日本実験動物学会, 口頭発表・ポスター発表, 2009 年 5 月
- 5) 阿部可奈恵, 成瀬智恵, 斎藤通紀, 浅野雅秀 「始原生殖細胞の発生と分化における HP1 $\gamma$  の機能解析」第 3 回エピジェネティクス研究会, ポスター発表, 2009 年 5 月
- 6) Toru Yoshihara, Kazushi Sugihara, Yasuhiko Kizuka, Shogo Oka and Masahide Asano "Learning/memory impairment and reduced expression of the HNK-1 carbohydrate in  $\beta$ -1,4-Galactosyltransferase-II-deficient mice" 第 32 回日本神経科学大会, ポスター発表, 2009 年 9 月
- 7) 伊藤光俊, 浅賀知也, 杉原一司, 吉原亨, 和田隆志, 浅野雅秀 「GNE V572L 点変異マウスにおける腎病変の発症機序とシアル酸糖鎖の関係」第 32 回日本分子生物学会, ポスター発表, 2009 年 12 月
- 8) 高垣聡一郎, 西江敏和, 浅野雅秀 「 $\beta$ 1-4 結合型ガラクトース糖鎖は造血幹細胞の骨髄へのホーミングに必須である」第 32 回日本分子生物学会, ワークショップ口頭発表・ポスター発表, 2009 年 12 月
- 9) 伊藤光俊, 浅賀知也, 杉原一司, 吉原亨, 和田隆志, 浅野雅秀 「GNE V572L 点変異マウスにおける腎臓の病態解析とシアル酸糖鎖の関与」第 57 回日本実験動物学会, ポスター発表, 2010 年

5月

- 10) 吉原亨, 西江敏和, 引持陽子, 浅野雅秀「中枢神経系特異的 $\beta$ 1,4ガラクトース転移酵素-5欠損マウスにおける活動性の亢進」第57回日本実験動物学会, ポスター発表, 2010年5月
- 11) 高垣聡一郎, 西江敏和, <sup>○</sup>浅野雅秀「 $\beta$ 1-4結合型ガラクトース糖鎖は造血幹細胞の骨髄へのホーミングに必須である」第57回日本実験動物学会, 口頭発表, 2010年5月
- 12) 阿部可奈恵, 成瀬智恵, 斎藤通紀, 浅野雅秀「始原生殖細胞の発生と分化におけるHP1 $\gamma$ の機能解析」第4回日本エピジェネティクス研究会, ポスター発表, 2010年5月
- 13) 目黒-堀家牧子, 宮野勝, 杉原一司, 成瀬智恵, 久郷裕之, 押村光雄, 浅野雅秀, 堀家慎一「ヒト15番染色体を保持したトランスクロモソミックマウスの作出」第4回日本エピジェネティクス研究会, ポスター発表, 2010年5月
- 14) Toshikazu Nishie, Yoko Hikimochi, Kota Zama, Yoshiyasu Fukusumi<sup>1</sup> Mitutoshi Ito, Haruka Yokoyama, Chie Naruse, Makoto Ito, and Masahide Asano “ $\beta$ 4-galactosyltransferase-5 is a lactosylceramide synthase essential for mouse extra-embryonic development.” 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, ポスター発表, 2010年12月
- 15) Toru Yoshihara, Toshikazu Nishie, Yoko Hikimochi, Hiroshi Suzuki and Masahide Asano “Behavioral analysis of CNS-specific  $\beta$ 4GalT-5-deficient mice.” 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, ポスター発表, 2010年12月
- 16) 新崎信一郎, 飯島英樹, 黒木絵莉, 竜中法佳, 浅野雅秀, 林紀夫, 三善英知「ガラクトース転移酵素は実験的腸炎を軽減させる」第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, 口頭発表・ポスター発表, 2010年12月
- 17) 河野哲也, 木塚康彦, 吉原亨, 浅野雅秀, 岡昌吾「HNK-1糖鎖の生合成過程における $\beta$ 4-galactosyltransferase-IIの役割」第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, ポスター発表, 2010年12月
- 18) Kanae Abe, Chie Naruse, Tomoaki Kato, Takumi Nishiuchi, Mitinori Saitou, Masahide Asano. “Heterochromatin protein 1 $\gamma$  is essential for primordial germ cells proliferation.” 日本分子生物学会 第11回春季シンポジウム, ポスター発表, 2011年5月
- 19) 橋本憲佳, 西内巧, 西村いくこ, 浅野雅秀「AEP/Legumain欠損マウス骨髄における血球貪食症候群様病態の解析」第58回日本実験動物学会, ポスター発表, 2011年5月
- 20) 阿部可奈恵, 成瀬智恵, 加藤智朗, 西内巧, 斎藤通紀, 浅野雅秀「HP1 $\gamma$ 変異マウスにおける細胞周期異常による始原生殖細胞(PGC)の減少」第58回日本実験動物学会, 口頭発表, 2011年5月
- 21) 伊藤光俊, 浅賀知也, 杉原一司, 吉原亨, 和田隆志, 浅野雅秀「GNE V572L点変異マウスにおける腎臓の病態解析とシアル酸糖鎖の関与」第84回日本生化学会大会, ポスター発表, 2011年9月
- 22) 成瀬智恵, 柴田進和, 阿部可奈恵, 川口隆之, 浅野雅秀「マウスKdm6bの欠損はホメオティックトランスフォーメーションを引き起こす」第34回日本分子生物学会年会, 口頭発表・ポスター発表, 2011年12月
- 23) 鈴木紘史, 吉原亨, 西江敏和, 引陽子, 神村栄吉, 浅野雅秀「行動テストバッテリーによる神経特異的 $\beta$ 4GalT-5欠損マウスの高次脳機能の解析」第34回日本分子生物学会年会, ポスター発表, 2011年12月
- 24) 伊藤光俊, 浅賀知也, 杉原一司, 吉原亨, 和田隆志, 浅野雅秀「シアル酸糖鎖欠損による腎疾患モデルマウスの病態解析とシアル酸投与による治療効果」第2回分子腎臓フォーラム, 口頭発表, 2012年1月
- 25) 川口隆之, 成瀬智恵, 柴田進和, 浅野雅秀「Kcnq1クラスターにおけるヒストン脱メチル化酵素Jmjd3の役割」第6回日本エピジェネティクス研究会, ポスター発表, 2012年5月



- 26) 成瀬智恵, 柴田進和, 阿部可奈恵, 川口隆之, 浅野雅秀「マウス Jmjd3 欠損は脊椎後弯を引き起こす」第6回日本エピジェネティクス研究会, ポスター発表, 2012年5月
- 27) 成瀬智恵, 柴田進和, 阿部可奈恵, 川口隆之, 浅野雅秀「マウス Jmjd3 の欠損はホメオティックトランスフォーメーションを引き起こす」第59回日本実験動物学会, 口頭発表, 2012年5月
- 28) 川口隆之, 成瀬智恵, 柴田進和, 浅野雅秀「胎盤におけるヒストン脱メチル化酵素 Jmjd3 の解析」第59回日本実験動物学会, 口頭発表, 2012年5月
- 29) 吉原亨, 鈴木紘史, 西江敏和, 引持陽子, 神村栄吉, 沖野望, 伊東信, 浅野雅秀「脳・神経系特異的  $\beta$ -1,4-ガラクトース転移酵素-5 欠損マウスにおける活動性・注意機能の障害」第59回日本実験動物学会, ポスター発表, 2012年5月
- 30) 吉原亨, 鈴木紘史, 西江敏和, 引持陽子, 神村栄吉, 沖野望, 伊東信, 浅野雅秀「脳・神経系特異的  $\beta$ -1,4-ガラクトース転移酵素-5 欠損マウスにおけるミエリン鞘形成障害の検討」第35回日本分子生物学会年会, ポスター発表, 2012年12月
- 31) 川口隆之, 成瀬智恵, 柴田進和, 浅野雅秀「ヒストン脱メチル化酵素 Jmjd3 のゲノムインプリンティングにおける役割」第35回日本分子生物学会年会, ポスター発表, 2012年12月
- 32) 田畑佳祐, 高垣聡一郎, 西江敏和, 浅野雅秀「 $\beta$ -1,4-ガラクトース転移酵素-I が作る糖鎖は造血幹細胞の骨髄ニッチへのホーミングに必須である」第35回日本分子生物学会年会, ポスター発表, 2012年12月
- 33) 家治翔平, 中川直樹, 神奈木玲児, 吉原亨, 浅野雅秀, 岡昌吾「神経系に発現する Lewis X 糖鎖抗原に関する研究」第85回日本生化学会大会, ポスター発表, 2012年12月
- 34) 菅原大介, 梶裕之, 杉原一司, 浅野雅秀, 成松久「Large-scale identification of target proteins of a glycosyltransferase isozyme: an important milestone for functional glycobiology」第85回日本生化学会大会, ポスター発表, 2012年12月

#### (4) 特許

- 1) 特許取得, 発明の名称「VPE 欠損モデル」(特許第 4375993 号), 発明者: 西村いくこ, 野田佳苗, 浅野雅秀, 西村幹夫, 特許出願人: 科学技術振興事業団, 取得日: 2009年9月18日
- 2) 特許出願, 発明の名称「情動障害のモデルマウスの開発」(特願 2009-220591), 発明者: 善岡克次, 佐藤時春, 浅野雅秀, 吉原亨, 特許出願人: 金沢大学, 出願日: 2009年9月25日

#### (5) 外部資金の獲得

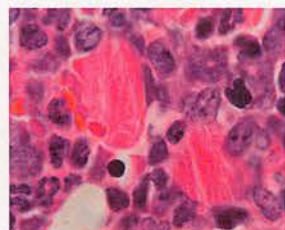
- 1) 文科省科研費 基盤研究(B)「糖鎖異常に起因するヒト疾患モデルマウスの開発と発症機構の解析」2009年度, 代表者, 4,300千円(2009年度分)
- 2) 文科省科研費 特定領域研究(生殖系列)「始原生殖細胞の初期分化における HP1 $\gamma$  とヒストン修飾の機能解析」2009~2010年度, 代表者, 6,600千円(総額)
- 3) 文科省科研費 基盤研究(C)「血球貪食症候を主徴とするリソソーム病の新規病態モデルの確立」2009~2011年度, 分担者, 800千円(2009~2011年度分担金)
- 4) 文科省科研費 基盤研究(B)「高次脳機能におけるガラクトースヤシアル酸糖鎖の機能解析」2010~2012年度, 代表者, 13,300千円(総額)
- 5) 文科省科研費 特定領域研究(生殖系列)「生殖細胞の発生・分化においてヒストン修飾因子が果たす制御機構の解析」2011~2012年度, 代表者, 6,200千円(総額)
- 6) 文科省科研費 挑戦的萌芽研究「骨髄幹細胞の新規ホーミング分子の同定と糖鎖修飾による効率的骨髄移植法の開発」2011~2013年度, 代表者, 1,900千円(2011~2012年度)
- 7) 文科省科研費 基盤研究(C)「糖転移酵素ノックアウトマウス表現型と糖鎖機能を解明する方法論の開発と実証」2011~2013年度, 分担者, 700千円(2011~2012年度分担金)

## 研究概要

機能未知のリソソーム局在システインプロテアーゼであるアスパラギンエンドペプチダーゼ (AEP/Legumain) 遺伝子の欠損マウスに加齢により出現する脾腫や骨髄異常を解析し、ヒトの血球貪食症候群 (HPS) の病態に類似していることに加え、リソソーム病であるゴーシェ病に特徴的な細胞形態を示すことから、AEP 欠損マウスがリソソーム病の新たな病態モデルとなる可能性を見いだした。AEP 遺伝子欠損による血球貪食病態の発症機構は未だに明らかではなく、骨髄細胞の RNA によるマイクロアレイ解析により発現変化の見られた遺伝子と病態発症との因果関係の解析を中心に進めている。

### アスパラギンエンドペプチダーゼ遺伝子欠損マウスの赤血球貪食病態の解析

129 と C57BL/6 の交雑系である AEP 遺伝子欠損マウスを解析し、体温上昇、貧血、肝脾腫、骨髄や脾臓における血球貪食細胞の出現など、ヒト HPS の病態をよく再現したモデルマウスとして位置づけた (PNAS, 2009)。血球貪食細胞はマクロファージであり赤血球貪食能は上昇し、一部でリソソーム病であるゴーシェ病に特徴的なゴーシェ細胞様の特徴も示した。リソソーム酵素である AEP の欠損により貪食作用の亢進と血球分解産物の異常な蓄積を生じ、HPS 様病態形成に深く関わっていることが示唆された。交雑系から B6 コンジェニック系に切り替えて解析を継続しているが、ゴーシェ様細胞は B6 背景では比較的若齢の個体でも多く観察され (写真)、糖脂質であるグルコセレブロシドがリソソームに蓄積するゴーシェ細胞の特徴をよく保っていた。貪食された赤血球脂質成分の分解異常がこのような特徴的病態を引き起こしていることが予想され、AEP 欠損マウスがリソソーム病の新たな自然発症モデルとなる可能性も視野に入れ解析を進めた。



血球貪食病態発症機構の解明を目指し、B6 コンジェニック系のマウス骨髄細胞から培養した誘導マクロファージを用いて、末梢赤血球の貪食・分解動態を解析した。骨髄誘導マクロファージは、オプソニン化赤血球を効率よく貪食し、貪食後の赤血球の分解動態にも異常は認められず、AEP 欠損マウス骨髄由来の成熟マクロファージ自体には機能異常のないことが示唆された。一方、骨髄から調製した RNA を用いたマイクロアレイの解析から、AEP 欠損マウスの骨髄では、加齢時にファゴソーム形成に関わる分子の発現や、フォスファチジルセリンを介した貪食亢進を示唆する遺伝子発現の増加が示唆されたので、AEP 欠損マウスの加齢個体における赤血球の異常について解析を進めた。骨髄における赤血球造血過程に何らかの異常があることが予想し、加齢個体の抹消赤血球に栄養枯渇等の負荷をかけて赤血球表面抗原の状態を観察したが、大きな変化は認められなかった。また、アレイデータからマクロファージと同じ細胞系譜である破骨細胞の分化誘導に関わる分子の発現上昇も見られたため、破骨細胞分化・成熟に関わる一連の遺伝子発現を定量的 PCR で確認したが、示唆的な結果は得られなかった。一方、骨髄中におけるリソソーム膜蛋白質を認識する汎マクロファージマーカー抗体による免疫染色で、血球貪食病態発生早期にマーカー陽性細胞数の減少と染色強度の減弱が観察されたので、マクロファージの増殖・分化あるいはファゴソームからリソソームへの成熟過程に異常があることを想定して解析を進めている。

## 教育活動

学部教育：医学類2年後期「動物実験と再生医学」を1コマ分担(2012年度)

大学院教育：

自然科学研究科薬学系博士前期課程「遺伝子改変動物学」を担当(2009年度)

医学系研究科修士課程「動物実験学演習」(必修)を4コマ程度分担

医学系研究科博士課程「基礎系教育セミナー」「遺伝子改変動物学特論」「発生工学基礎技術コース」

全学教育：文科省基本指針に定められた教育訓練「動物実験基礎講習」を担当(年9回程度)

動物実験委員会における動物実験計画のオンライン申請・審査システムの構築と維持管理、計画書の事前審査等を介した計画書作成の指導、並びに申請者と委員会との連絡調整を統括している。

学外教育：動物実験講習(近畿大学 理工学部・薬学部合同;2009年度)

## 研究業績 (2009年～2012年)

遺伝子改変動物分野 橋本憲佳

### (1) 学術論文

- 1) \*Chan, C.-B., \*Abe, M., Hashimoto, N., Hao, C., Williams, I.R., Liu, X., Nakao, S., Yamamoto, A., Li, S.-Y., Hara-Nishimura, I., #Asano, M., and #Ye, K. Mice lacking asparaginyl endopeptidase (AEP) develop disorders resembling hemophagocytic syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 468-473, 2009. \*equal contribution. #equal correspondence.

### (2) 総説, 著書, その他

- 1) 浅野雅秀, 橋本憲佳. Asparaginyl endopeptidase 欠損マウスにおける血球貪食症候群様病態について. *血液内科*, 63(6), 2011, 634-639.

### (3) 学会発表

#### 国内学会

- 1) 安陪道代, ○橋本憲佳, 中尾眞二, 山本章嗣, 西村いくこ, 浅野雅秀 「AEP/Legumain 欠損マウスにおける血球貪食症候群様病態の解析」第56回日本実験動物学会, 口頭発表・ポスター発表, 2009年5月
- 2) 橋本 憲佳, 西内 巧, 西村 いくこ, 浅野 雅秀. AEP/Legumain 欠損マウス骨髄における血球貪食症候群様病態の解析. 第58回日本実験動物学会総会, ポスター発表, 2011年5月

### (4) 特許

なし

### (5) 外部資金の獲得

- 1) 文科省科研費 基盤研究(C) 「血球貪食症候を主徴とするリソソーム病の新規病態モデルの確立」2009年度～2011年度, 代表者, 3,500千円 (直接経費総額)
- 2) 文科省科研費 基盤研究(B) 「糖鎖異常に起因するヒト疾患モデルマウスの開発と発症機構の解析」2007～2009年度, 分担者, 500千円 (2009年度分)
- 3) 文科省科研費 挑戦的萌芽研究 「骨髄幹細胞の新規ホーミング分子の同定と糖鎖修飾による効率的骨髄移植法の開発」2011～2013年度, 分担者, 400千円 (2011～2012年度分)

## 研究概要

我々は変異マウスの作成手法の1つである遺伝子トラップ法を用いて、哺乳類の発生に重要な遺伝子を発見することを目的として研究を進めてきた。その中で得られた Heterochromatin protein 1 (HP1) $\gamma$  の変異マウス (Naruse et al., BBRC 2007) の解析により、HP1 $\gamma$  は生殖細胞形成時に必須であることを明らかにした。これまでの研究から、ヒストン修飾因子が生殖細胞形成や細胞の分化、体軸形成に重要な機能を持つことが明らかになってきたので、現在、ヒストン修飾因子の遺伝子改変マウスを用いたエピジェネティック制御による発生・分化の制御についての研究を進めている。

発表ではヒストン脱メチル化酵素 Jmjd3 による体軸形成のメカニズムの解析について報告する。

### 1. 生殖細胞の減数分裂における HP1 $\gamma$ の機能解明 (成瀬, 理研・古関先生との共同研究)

HP1 $\gamma$  はヒストン H3K9 のメチル化を認識して結合し、転写抑制に関わると考えられている。遺伝子トラップ法で単離した HP1 $\gamma$  変異マウスは出生直後にかなりの割合が死亡し、一部生存するマウスは雌雄共に生殖細胞の減少が認められ不妊であった。精子は全く形成されず、精原細胞において、男性インプリンティング遺伝子の発現低下及びインプリンティングの低下が認められた。雌は成熟卵母細胞が僅かながら形成され妊娠する個体もあったが仔は出生後致死であった。HP1 $\gamma$  変異精母細胞及び卵母細胞では減数分裂期の生殖細胞においてセントロメア領域の H3K9 および H4K20 のメチル化が低下していた。これらのことから、HP1 $\gamma$  は特にセントロメア近傍領域におけるエピジェネティック制御を介して減数分裂に重要な役割を担うことが示唆された (Takada and Naruse et al., Development 2011)。

### 3. 始原生殖細胞における HP1 $\gamma$ の機能解析 (阿部, 成瀬)

HP1 $\gamma$  変異生殖細胞は始原生殖細胞 (PGC) の時期から数が減少していたので、HP $\gamma$  変異生殖細胞の発生や細胞周期について調べたところ、細胞周期の G1 から S への移行に異常が認められ、チェックポイントを司るタンパクの一つである p21 の集積が認められた (Abe et al., Bio Reprod 2011)。現在のところ HP1 $\gamma$  とこれらの異常との関連は不明だが、現在、ヒストン修飾の変化に注目して解析を進めている。

### 4. ヒストン脱メチル化酵素 Jmjd3 の機能解析 (成瀬, 川口)

Jmjd3 はヒストン H3K27 特異的な脱メチル化酵素であり、転写を活性化する役割があると考えられている。H3K27 のメチル化は動物の体軸形成に関わる Hox 遺伝子を制御することが知られており、Jmjd3 が H3K27 のメチル化を制御することで体軸形成に関わっていることが予想された。ヒストン脱メチル化酵素 Jmjd3 変異マウスを作製したところ、Jmjd3 がマウスにおいて Hox 遺伝子発現の制御を介して前後軸形成に関与することを明らかにした (Naruse et al., 投稿中)。また、Jmjd3 変異胎盤のインプリンティング遺伝子の発現が異常になっており、これらのインプリンティング遺伝子のプロモーター領域におけるヒストン修飾が変化していることを明らかにした (Kawaguchi et al., 投稿準備中)。

## 教育活動

学部教育: 医学類3年後期「基礎配属」毎年1名受入

大学院教育: 医薬保健学総合研究科医科学専攻修士課程「動物実験学演習」(2コマ担当)

: 医学系研究科博士課程「遺伝子改変動物学特論」「基礎系教育セミナー」

「発生工学基礎技術コース」

: 修士課程学生指導1名, 博士課程学生指導2名 (2009-2012年度)

## 研究業績 (2009 年～2012 年)

遺伝子改変動物分野 成瀬智恵

### (1) 学術論文

- 1) Irie N., Takada Y., Watanabe Y., Matsuzaki Y., Naruse C., Asano M., Iwakura Y., Suda T. and Matsuo K. "Bidirectional signaling through ephrinA2-EphA2 enhances osteoclastogenesis and suppresses osteoblastogenesis." *J. Biol. Chem.* 284: 14637-14644, 2009
- 2) Nishie, T., Hikimochi, Y., Zama, K., Fukusumi, Y., Ito, M., Yokoyama, H., Naruse, C., Ito, M. and Asano, M. " $\beta$ 4-galactosyltransferase-5 is a lactosylceramide synthase essential for mouse extra-embryonic development." *Glycobiology* 20: 1311-1322, 2010.
- 3) Abe, K., Naruse, C., Kato, T., Nishiuchi, T., Saitou, M., and Asano, M. "Loss of heterochromatin protein 1 $\gamma$  reduces the number of primordial germ cells via impaired cell-cycle progression." *Biol. Reprod.* 85: 1013-24, 2011.
- 4) \*Takada, Y., \*Naruse, C., \*Costa, Y., (\*equal contribution) Shirakawa, T., Tachibana, M., Sharif, J., Kezuka-Shiotani, F., Kakiuchi, D., Masumoto, H., Shinkai, Y., Ohbo, K., Peters, A.H., Turner, J.M., #Asano, M. and #Koseki, H. (#equal correspondence) "HP1 $\gamma$  links histone methylation marks to meiotic synapsis in mice." *Development* 138: 4207-17, 2011.

### (2) 総説, 著書, その他

なし

### (3) 学会発表

- 1) 成瀬智恵, 高田幸, Yael Costa, 阿部可奈恵, 柿内太, James Turner, 古関明彦, 浅野雅秀 「HP1 $\gamma$  は第一減数分裂期における精母細胞のヒストンメチル化に必須である」口頭発表およびポスター発表 第56回日本実験動物学会総会, 2009年5月, 大宮
- 2) 阿部可奈恵, 成瀬智恵, 柿内太, 浅野雅秀 「始原生殖細胞の発生と分化における HP1 $\gamma$  の機能」ポスター発表, 第56回日本実験動物学会総会, 2009年5月, 大宮
- 3) 阿部可奈恵, 成瀬智恵, 柿内太, 浅野雅秀 「始原生殖細胞の発生と分化における HP1 $\gamma$  の機能」ポスター発表, 第3回日本エピジェネティクス研究会年会, 2009年5月, 東京
- 4) 成瀬智恵, 浅野雅秀 「生殖細胞形成における HP1 $\gamma$  の機能解析」口頭発表およびポスター発表 特定領域研究生殖サイクル若手勉強会, 2009年8月, 御殿場
- 5) 阿部可奈恵, 成瀬智恵, 斎藤通紀, 浅野雅秀 「始原生殖細胞の発生と分化における HP1 $\gamma$  の機能解析」ポスター発表 第4回日本エピジェネティクス研究会年会, 2010年5月, 米子
- 6) 目黒-堀家牧子, 宮野勝, 杉原一司, 成瀬智恵, 久郷裕之, 押村光雄, 浅野雅秀, 堀家慎一 「ヒト15番染色体を保持したトランスクロモソミックマウスの作出」ポスター発表 第4回日本エピジェネティクス研究会年会, 2010年5月, 米子
- 7) Kanae Abe, Chie Naruse, Tomoaki Kato, Takumi Nishiuchi, Mitinori Saitou, Masahide Asano 「The role of heterochromatin protein 1 (HP1)  $\gamma$  in primordial germ cells」 poster presentation the Mouse Development, Genetics & Genomics meeting 2010, Oct. 2010, Cold Spring Harbor Laboratory, USA
- 8) Toshikazu Nishie, Yoko Hikimochi, Kota Zama, Yoshiyasu Fukusumi, Mitutoshi Ito, Haruka Yokoyama, Chie Naruse, Makoto Ito, and Masahide Asano 「 $\beta$ 4-galactosyltransferase-5 is a lactosylceramide synthase essential for mouse extra-embryonic development」 poster presentation BMB2010, Dec. 2010, Kobe
- 9) Kanae Abe, Chie Naruse, Tomoaki Kato, Takumi Nishiuchi, Mitinori Saitou, Masahide Asano. "Heterochromatin protein 1 $\gamma$  is essential for primordial germ cells proliferation." 日本分子生物学会 第11回春季シンポジウム, 2011年5月, 金沢

- 10) 阿部可奈恵, 成瀬智恵, 加藤智朗, 西内巧, 斎藤通紀, 浅野雅秀「HP1 $\gamma$ 変異マウスにおける細胞周期異常による始原生殖細胞 (PGC) の減少」第 58 回日本実験動物学会, 2011 年 5 月, 東京
- 11) 成瀬智恵, 柴田進和, 阿部可奈恵, 川口隆之, 浅野雅秀「マウス Kdm6b の欠損はホメオティックトランスフォーメーションを引き起こす」第 34 回日本分子生物学会年会, 2011 年 12 月, 横浜
- 12) 川口隆之, 成瀬智恵, 柴田進和, 浅野雅秀「胎盤におけるヒストン脱メチル化酵素 Kdm6b の解析」ポスター発表 第 6 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2012 年 5 月, 東京
- 13) 成瀬智恵, 柴田進和, 阿部可奈恵, 川口隆之, 浅野雅秀「マウス Kdm6b の欠損は脊椎後弯症を引き起こす」ポスター発表 第 6 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2012 年 5 月, 東京
- 14) 成瀬智恵, 柴田進和, 阿部可奈恵, 川口隆之, 浅野雅秀「マウス Jmjd3 の欠損はホメオティックトランスフォーメーションを引き起こす」口頭発表 第 59 回日本実験動物学会総会, 2012 年 5 月, 別府
- 15) 川口隆之, 成瀬智恵, 柴田進和, 浅野雅秀「胎盤におけるヒストン脱メチル化酵素 Jmjd3 の解析」口頭発表 第 59 回日本実験動物学会総会, 2012 年 5 月, 別府
- 16) 川口隆之, 成瀬智恵, 柴田進和, 浅野雅秀「胎盤におけるヒストン脱メチル化酵素 Jmjd3 の解析」ポスター発表 第 35 回日本分子生物学会年会, 2012 年 12 月 12 日, 福岡

#### (4) 特許

なし

#### (5) 外部資金の獲得

- 1) 文科省科研費 若手研究(B)「ヘテロクロマチンプロテイン 1 $\gamma$ 変異マウスが不妊症を呈する分子メカニズムの解析」2008-2009 年度, 研究代表者, 2009 年度: 1,500 千円
- 2) 文科省科研費 特定領域研究 (生殖サイクル)「始原生殖細胞の初期分化における HP1 $\gamma$  とヒストン修飾の機能解析」2009-2010 年度, 研究分担者 (研究代表者 浅野雅秀), 分担額 2,000 千円
- 3) 金沢大学重点研究経費 女性研究者支援「始原生殖細胞の発生における HP1 $\gamma$  の機能解析」2009 年度, 研究代表者, 600 千円
- 4) 文科省科研費 若手研究 (B)「ヒストン修飾因子変異マウスが不妊症を呈するメカニズムの解析」2010-2011 年度, 研究代表者, 総額 4,030 千円
- 5) 文科省科研費 特定領域研究 (生殖サイクル)「生殖細胞の発生・分化においてヒストン修飾因子が果たす制御機構の解析」2011-2012 年度, 研究分担者 (研究代表者 浅野雅秀), 分担額 1,600 千円

## 研究概要

通常約3～4年掛かるコンジェニック系統の作成を、スピードコンジェニックにより約半分の期間で作成するシステムを確立し、2つの標的遺伝子についてコンジェニック系統を作成した。また、ガラクトース転移酵素 ( $\beta$ 4GalT-1～ $\beta$ 4GalT-6) のマウス初期胚での発現様式について解析を進めた。 $\beta$ 4GalT-5KOマウスは胚体外組織の異常により発生初期に致死となるが、コンディショナル KO を用いて、 $\beta$ 4GalT-5欠損マウスの配偶子形成についての解析を検討している。これらの研究に加え、担当する角間分室で進めているマウス初期胚の凍結保存及び胚移植による個体作成といった発生工学システムの構築について報告する。

## スピードコンジェニック法によるコンジェニック系統の作製

マウスのコンジェニック系統とは、ドナーとなる系統のある遺伝子領域を残しながら、その他の遺伝情報をレシピエントとなる系統と同一に（あるいは同一にみなせるように）交配して得られた系統を言う。通常はレシピエントとドナーを交配させて生まれてきた子どものうち、目的の遺伝情報を持つ子どもを再びレシピエント系統に戻し交配させる。戻し交配を10世代繰り返すことによりコンジェニック系統が得られる。マウスは1年で約3世代進むので、この方法ではコンジェニック系統の作製に3～4年掛かってしまう。スピードコンジェニック法は各世代で交配親を選択する際マーカー遺伝子を指標としてレシピエントへの置換がより進んだ個体を選ぶことにより約半分の期間でコンジェニック系統を作製する方法である。GT5cfl 及び、jmjd3afl を各々B6に導入した2つのコンジェニック系統を作製した。

## ガラクトース転移酵素 ( $\beta$ 4GalT-1～ $\beta$ 4GalT-6) のマウス初期胚での発現様式の解析

マウスの着床前初期胚におけるガラクトース転移酵素の発現について解析を進めている。MII期, 2細胞期, 4細胞期, 8細胞期, 桑実胚期, 胚盤胞期の卵及び胚に於ける各遺伝子の発現に解析した。 $\beta$ 4GalT1～3は発現量が低く、 $\beta$ 4GalT4～6は高い傾向が見られた。

## $\beta$ 4GalT-5KO マウスの配偶子形成の解析

$\beta$ 4GalT5KO マウスは胎生致死であるためこのままでは個体としての解析が出来ない、このため $\beta$ 4GalT5 遺伝子を loxP で挟んだ  $\beta$ 4GalT5 flox マウスに、始原生殖細胞で Cre を発現する TNAP Cre マウスを交配して、始原生殖細胞でのみ  $\beta$ 4GalT5 遺伝子を不活化したコンディショナル KO マウスを作製し解析を予定している。

## 教育活動

### 大学院教育：

医薬保健学総合研究科医科学専攻（修士課程）「動物実験学演習」（2コマ担当）  
 医学系研究科博士課程「遺伝子改変動物学特論」「基礎系教育セミナー」  
 「発生工学基礎技術コース」

全学教育：文科省基本指針に定められた教育訓練「動物実験基礎講習」を担当している。

## 研究業績 (2010 年～2012 年)

遺伝子改変動物分野 神村栄吉

### (1) 学術論文

### (2) 総説, 著書, その他

### (3) 学会発表

#### 国際学会

- 1) Yoshihara, T., Suzuki, H., Nishie, T., Hikimochi, Y., Kamimura, E., Okino, N., Ito, M. and Asano, M. Reduction of lactosylceramide synthase activity and behavioral abnormalities in brain-specific b4-galactosyltransferase-5-deficient mouse. The 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, Spain, July 15, 2012.

#### 国内学会

- 1) 鈴木紘史, 吉原 亨, 西江敏和, 引持陽子, 神村栄吉, 浅野雅秀. Analysis of brain function in neuron specific beta4-galactosyltransferase-5 deficient mouse by using behavioral test-battery. 第 34 回日本分子生物学会年会, 2011 年 11 月, 横浜
- 2) 吉原 亨, 鈴木紘史, 西江敏和, 引持陽子, 神村栄吉, 沖野 望, 伊東 信, 浅野雅秀. 脳・神経系特異的  $\beta$ -1,4-ガラクトース転移酵素-5 欠損マウスにおける活動性・注意機能の障害. 第 59 回日本実験動物学会, 2012 年 5 月, 別府
- 3) 吉原 亨, 鈴木紘史, 西江敏和, 引持陽子, 神村栄吉, 沖野 望, 伊東 信, 浅野雅秀. 脳・神経系特異的  $\beta$ -1,4-ガラクトース転移酵素-5 欠損マウスにおけるミエリン鞘形成障害の検討. 第 35 回日本分子生物学会年会, 2012 年 12 月, 福岡 (予定)

### (4) 特許

### (5) 外部資金の獲得