

■研究課題名

標的的特異的LINEを利用した新規トランスジェニックツールの開発

■研究の目的

トランスジェネシスは遺伝子の機能を調べるだけではなく、遺伝子改変や遺伝子治療のベースとなる生物科学の最も基本的な技術だが、一部のモデル生物以外では効率的な方法がない。研究代表者は、テロメアに転移するレトロトランスポゾン（LINE）をウイルスに組換えて、細胞の特定の染色体位置に導入する全く新規のトランスジェネシス法を考案した。本研究は、昆虫で見つかった様々な配列特異性を持つLINEを、適切なウィルスベクターに組み換えることにより、昆虫から脊椎動物にいたる広範な動物で、簡便に遺伝子導入する技術の開発を目指す。

■研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①広範な昆虫における標的的特異的LINEによるトランスジェネシス法の確立
（◎藤原晴彦／東京大学大学院新領域創成科学研究科）
- ②魚類における標的的特異的LINEによるトランスジェネシス法の確立
（◎藤原晴彦／東京大学大学院新領域創成科学研究科）
- ③ヒト細胞における標的的特異的LINEによるトランスジェネシス法の確立
（◎藤原晴彦／東京大学大学院新領域創成科学研究科）



藤原晴彦

■研究の内容・主要な成果

- ①各種生物から合計9種類の標的的特異的LINEを同定・単離し、8種類のLINEについてSf9細胞（昆虫の培養細胞）などで特定の配列部位に標的的特異的に転移させるシステムを完成させた。
- ②高感度緑色蛍光タンパク質（EGFP）を組み込んだR2Bm（カイコのレトロトランスポゾン的一种）のメッセンジャーRNA（mRNA）をカイコ胚に注入し、28SリボソームDNA（rDNA）の特定配列に特異的に転移させた。
- ③R2OI（メダカのリトロトランスポゾン的一种）がゼブラフィッシュの28S rDNAの特定配列へ特異的に転移したことを検出し、魚類で初めて標的的特異的に遺伝子を導入するシステムができた。
- ④EGFPを組み込んだR2OIを作成してゼブラフィッシュで転移実験を行い、EGFP全長が28S rDNAの特定配列部位に特異的に導入されたのを確認するとともに、導入した世代の稚魚でEGFPを発現する個体を複数得た。
- ⑤ウィルスに組み換えたR2OIを構築し、ヒト細胞の28S rDNAへ標的的特異的に転移させる技術確立した。

■今後の展開方向・見込まれる波及効果

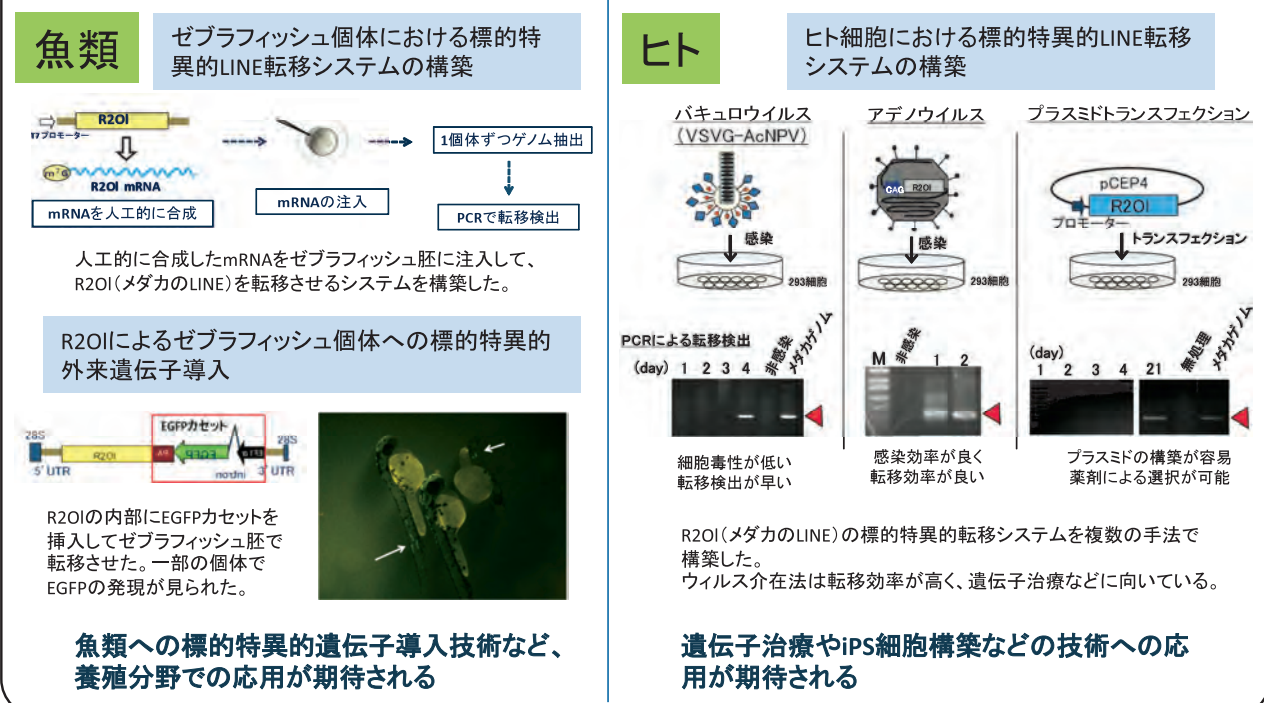
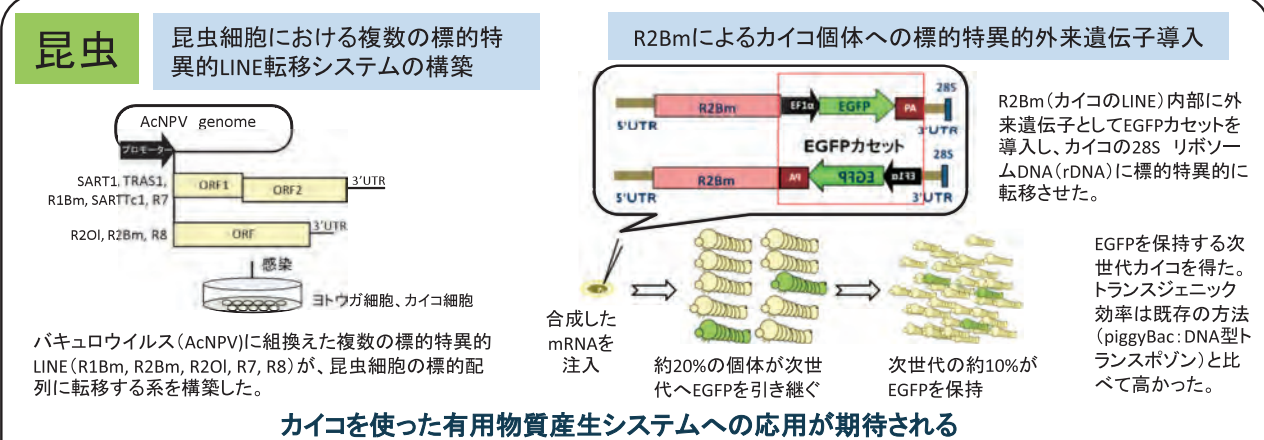
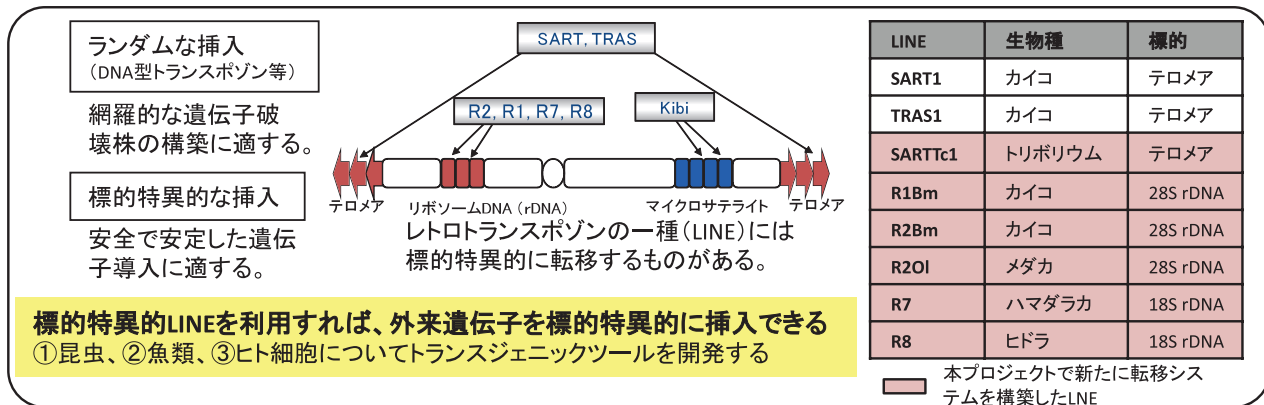
- ①昆虫を使った新たな有用物質の産生システムとしてその応用が期待できる。
- ②養殖や家畜の品種改良において、安定した発現が期待できる遺伝子導入系として応用できる。
- ③医薬研究のためのトランスジェニックマウスの作成などに応用できる。

■公表した主な特許・論文

- ①Kawashima, T., *et al.*: A novel target-specific gene delivery system combining baculovirus and sequence-specific long interspersed nuclear elements. *Virus Res.* 127: 49-60 (2007).
- ②Richards, S., *et al.*: The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum*. *Nature* 452: 949-955 (2008).
- ③Futahashi, R. & Fujiwara, H.: Juvenile hormone regulates butterfly larval pattern switches. *Science* 319: 1061 (2008)
- ④Yoshitake, K., *et al.*: Creation of a novel telomere-cutting endonuclease based on the EN domain of telomere-specific non-long terminal repeat retrotransposon, TRAS1. *Mobile DNA* 1: 13 (2010)
- ⑤Mitchell, M., *et al.*: Structural basis for telomerase catalytic subunit TERT binding to RNA template and telomeric DNA. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 17: 513-518 (2010)

■研究成果の具体的図表

標的特異的LINEを利用した新規トランスジェニックツールの開発



標的特異的な遺伝子導入技術は、農業・医薬・遺伝子治療・品種改良などの分野で大きなインパクトを与える