様式３

群馬大学生体調節研究所内分泌･代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 24 年 4 月 20 日

群馬大学生体調節研究所長　殿

所属機関名　九州大学病院　内分泌代謝･糖尿病内科
職名　　講師
研究代表者　野村　政壽
勤務先所在地　〒812－8582　福岡市東区馬出 3-1-1

電話番号　　092-642-5293
ファックス番号　092-642-5287
E-メール　　nomura@med.kyushu-u.ac.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

（課題番号　11015　）

１．研究プロジェクト名と共同研究課題名	マウスにおける細胞内物質輸送システムの分子機構の解析				
２．共同研究目的	細胞内物質輸送関連因子のノックアウトマウスを作製し、分泌、脂質代謝、発生等における生理的役割について動物個体レベルで解析する				
３．共同研究期間	平成 23 年　4 月　1 日　～　平成 24 年　3 月　31 日				
４．共同研究組織					
氏　　名	年齢	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
（研究代表者） 野村　政壽 （分担研究者）	49	九州大学病院 内分泌代謝・糖尿病内科	講師	ノックアウトマウスの作製と解析	
５．群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員			分野名	細胞構造分野	氏名　佐藤　健

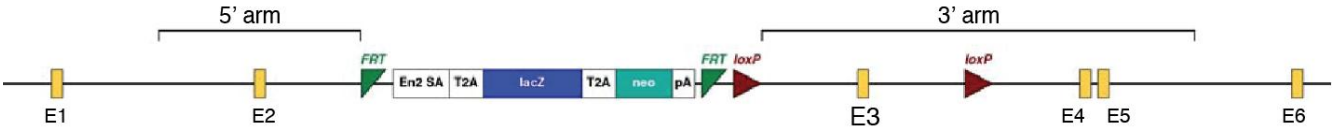
※　次の６，７，８の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、６，７，８の項目全体では１頁に収めて下さい。

（課題番号　11015　）

6. 共同研究計画

1）低分子量 GTPase RAB35 のコンディショナルノックアウトマウスの作製

RAB35 遺伝子改変 ES 細胞を EUCOMM より購入。下図にその遺伝子座を示す。全長約 25kb、6 エキソンよりなる RAB35 遺伝子の第 3 エキソンを loxP 配列で挟んだ flox allele をもつ ES 細胞を用いて、コンディショナルノックアウトマウスの作製を試みた。



Targeting に用いた ES cell line:は C57BL/6N 由来の JM8.N4 であり、キメラマウスの効率、F1 マウスの確認を Coat color で行うため、C57BL/6N とは coat color の異なる balb/c マウスを用いて胚盤胞を用意した。

2 種類の ES 細胞に対し、それぞれ 2 回の injection で計 6 匹の仮親に 56 個の胚盤胞を戻した。食殺が2腹でみられ、最終的に2腹の出産で 6 匹のキメラを得たが、♂キメラは 2 匹であった。キメラ率は 30-40%と低く、その後半年間 B6 マウスとの交配を継続したが、不妊であった。

7. 共同研究の成果

キメラマウスの作製で問題が生じ、germ line transmission が得られなかった。解決法として、別の ES cell line の injection を試みる、もしくは今回購の ES 細胞作製に使用した targeting vector を用いて相同変異体を自ら作製する必要があると考えられる。

RAB35 は線虫においてコレステロールの細胞内取り込みに働く新規因子として同定されたものであり，脂質代謝、さらには免疫系、神経系にも極めて重要な因子であると思われるため、遺伝子改変マウスの作製を継続する。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

（本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。）

なし。