

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2005～2008

課題番号：17200028

研究課題名（和文） 優性遺伝病発症モデルマウスを用いた遺伝要因と環境要因の解析

研究課題名（英文） Analysis on genetic and environmental factors using a mouse model for dominantly inherited disease.

研究代表者

山村 研一(YAMAMURA KENICHI)

熊本大学・発生医学研究センター・教授

研究者番号：90115197

研究成果の概要：

家族性アミロイドポリニューロパチーは優性遺伝病であり、トランスサイレチン(TTR)遺伝子の異常によって発症する。その病因・病態解析を行うため、マウス TTR 遺伝子をヒト正常 TTR 遺伝子及びヒト変異 TTR 遺伝子で置換したマウスの作製に成功した。また、病原微生物がない環境でモデルマウスを飼育すると全く発症しないことを明らかにした。また、日本産野生マウス由来の MSM/Ms からの ES 細胞の樹立に成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	8,700,000	2,610,000	11,310,000
2006 年度	7,100,000	2,130,000	9,230,000
2007 年度	10,700,000	3,210,000	13,910,000
2008 年度	10,700,000	3,210,000	13,910,000
年度			
総計	37,200,000	11,160,000	48,360,000

研究分野：発生遺伝学

科研費の分科・細目：実験動物学・実験動物学

キーワード：トランスサイレチン、アミロイドポリニューロパチー、相同組換え、キメラ、野生マウス、ES 細胞、遺伝子破壊マウス

## 1. 研究開始当初の背景

家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)は常染色体優性遺伝性の全身性アミロイドーシスであり、末梢神経及び自律神経障害を主徴とし、最後は心不全や腎不全で死亡に至る疾患である。この主たる原因はトランスサイレチン(transferrin: TTR)遺伝子の点突然変異であり、変異タンパクがアミロイドとなって沈着することによって発症すると考えられている。1985年に発見されてから20年以上もたつが、驚くべきことに病態は徐々に解明されつつあるものの、肝臓移植以

外に有効な治療法はなく、だれでもが受けることのできる治療法がまだ開発されていない。FAPは機能獲得型の優性遺伝病であり、正常遺伝子の導入による遺伝子治療は期待できない。よって、病因・病態解析に基づく、新しい治療法の開発は急務である。

これまで病態解析のために研究代表者らの研究室でトランスジェニックマウスモデルが作成してきた。その結果、世界に先駆けて、以下のことを明らかにしてきた。上流0.6kbを持つヒトTTR遺伝子は、肝臓特異的に発現するが、脳の脈絡叢では発現せず、発

現量は正常の約 1/10 であること。したがって、0.6kb 内には、十分なシスエレメントが存在しないことが示唆された。上流約 6kb を持つ変異トランスサイレチン遺伝子を導入した Tg マウスを作製し、この場合は、発現の組織特異性、時期特異性が正常の発現パターンを示すことを明らかにした。すなわち、肝、脳脈叢で発現し、胎生期から発現することを明らかにした。また、発現量についても、ヒト血清と同じ程度の濃度で発現することを見出した。これらのことは、上流 6kb 内にこれら発現の特異性を決定するシスエレメントが存在することを示唆している。メタロチオネインプロモーター、上記の 0.6kb あるいは 6.0kb のプロモーターを持つヒト変異トランスサイレチン (hMet30) 遺伝子を導入した Tg マウスを解析したところ、アミロイドが心臓、腎臓、甲状腺等のヒトで見られるのと同様の組織 (末梢神経系を除く) に沈着すること、年齢とともに沈着量が増加することを明らかにした。Tg マウスモデルを用いてヘテロ 4 量体のうち大部分がヒト変異蛋白よりなるものがアミロイド沈着には重要であること、hMet30 蛋白はマウストランスサイレチンとヘテロ 4 量体を形成し血中に存在することを明らかにした。血中 hMet30 レベルは生後 4 週に成人レベルに達するが、沈着は早くして生後 1 年であり、なんらかの環境要因がアミロイド沈着の引き金となることを明らかにした。hMet30 分子の 10 番目をシステインからセリンに置換すると、アミロイドが沈着しないこと、したがって、10 番目のシステインの SH 基が単量体の重合化に重要であることを明らかにした。コンベンショナル環境下の腸内細菌叢の移植により腸管にアミロイド沈着が誘導されることを明らかにした。

一方、血清アミロイドタンパク P 成分 (SAP) のアミロイド沈着における役割を明らかにするため以下の 2 つの方法で解析を行った。第 1 は、ヒト SAP 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作製する方法である。ヒト SAP を過剰に産生させても hMet30 によるアミロイド沈着の開始、組織分布、進展には関与しないことを明らかにした。第 2 は、リポポリサッカライドをトランスジェニックマウスに投与し、マウス SAP を持続的に上昇させる方法である。5 日ごとに LPS を投与し炎症を惹起した状態を持続させても、2 次性アミロイドーシスは亢進しても、hMet30 によるアミロイド沈着は影響されないことを明らかにした。したがって、SAP の上昇や単なる炎症が関与するわけではないことを明らかにした。

## 2. 研究の目的

これまでに、アミロイドの沈着に到るには

5 つのステップ、すなわち 4 量体である TTR 分子の単量体への解離、単量体 (おそらく変異のある単量体) の修飾、修飾を受けた単量体による重合体の形成、重合体から不溶性のアミロイドの形成、アミロイドへの SAP (血清アミロイド P 成分) の付着を経ることが知られている。これらのステップのうち、4 量体から単量体への解離は、遺伝子変異に基づいて生じたアミノ酸変異が存在すると起こりやすいことが示唆されている。この部分は遺伝的な影響と思われる。しかし、それ以降のステップは、環境要因の大きく関与すると考えられる。本研究では、これらのステップのうち、の 4 量体の解離について新たに開発するマウスモデルを用いて検討し、同時に遺伝的要因や環境的要因を変えることによりアミロイド形成を促進あるいは阻止できるかどうかを検討することを目的とする。

MSM/Ms マウスは、*Mus musculus molossinus* に属し、我が国の野生マウス由来の近交系であり、マイクロサテライトプローブ、BAC クローンの整備がなされ、今後大いに活用すべきユニークなマウス系統である。現在、世界中で樹立されている ES 細胞は、*Mus musculus domesticus* に属し、欧米で確立された近交系マウスである 129 系統や C57BL/6 系統等の由来のものしか存在しない。そこで、MSM/Ms マウスから ES 細胞を樹立できれば、非常に貴重な実験動物としてのモデル系が確立できる。しかし、MSM/Ms マウスからの細胞の樹立に関しては、かなり以前に現在の京都大学再生医学研究所の中辻教授らにより試みられたことがあるが、生殖系列への伝達がみられず、結局中断されたままになっている。そこで、MSM/Ms マウスからの細胞の樹立を行う。

## 3. 研究の方法

### (1) 可変型相同組換えベクターの作製

既に、loxP の左側の逆反復配列に変異を導入した lox71 と右側の送反復配列に変異を導入した lox66 を用いれば、遺伝子置換が可能であることを証明している。従って、まず lox71 および loxP を含む相同組換えベクター  
「 DT-A-polyA-5' homologous region-lox71-PGK-neo-loxP-polyA-lox2272-3' homologous region」を作製する

### (2) ノックアウト ES クローンの単離

上記のベクターを ES 細胞に電気穿孔法にて導入し、相同組換えを行いマウス TTR (mTtr) 遺伝子をいったん破壊した targeted ES クローンを得る。

### (3) ノックアウトマウスの作製

上記 targeted ES クローンをを用いて、桑実胚との凝集法にてキメラマウスを作製し、その後の交配により mTtr ノックアウトマウス (Ttr<sup>-/-</sup>) を樹立する。

(4) hVal30 replacement ベクターの作製  
PGK-neo 部分をヒト正常 TTR 遺伝子( hVal30 )  
で置換するための replacement ベクター  
「 lox66-hVal30 cDNA -loxP-FRT-PGK-  
puromycin-FRT」を作製する。

(5) hVal30 replaced ES クローンの単離  
上記 hVal30 replacement ベクターを  
targeted ES クローンに電気穿孔法にて導入し、  
lox66 と lox71 間および loxP と loxP 間  
の両方で組換えがおこり、最初に挿入した  
PGK-neo 部分を hVal30 cDNA で置換された  
replaced ES クローンを単離する。

(6) hVal30 を持つマウスの作製  
hVal30 replaced ES クローンをを用いてキメラ  
マウスを作製し、ヒトの野生型遺伝子を持つ  
マウス系統(Ttr<sup>hVal30</sup>)を樹立する。正常マウス  
(Ttr<sup>+/+</sup>)と交配し、正常ヒト化ヘテロ(Ttr/  
Ttr<sup>hVal30</sup>) 及び正常ヒト化ホモマウス  
(Ttr<sup>hVal30</sup>/ Ttr<sup>hVal30</sup>)を樹立する

(7) hMet30 replacement ベクターの作製  
FAP 患者の多くは、30 番目の Val が Met に  
変異している。この変異を挿入するため、  
「 lox66-hMet30-loxP-FRT-PGK-puro-FRT」の  
置換ベクターを作製する。

(8) hMet30 replaced ES クローンの作製  
hMet30 replacement ベクターを targeted ES  
クローンに導入することにより、PGK-neo 部  
分を hMet30 遺伝子で置換した hMet30  
replaced ES クローンを得る。

(9) hMet30 を持つマウスの作製  
hMet30 replaced ES クローンをを用いてキメ  
ラマウスを作製し、hMet30 遺伝子を持つマウ  
ス系統(Ttr<sup>hMet30</sup>)を樹立する。正常マウス  
(Ttr<sup>+/+</sup>)と交配し、変異ヒト化ヘテロ(Ttr/  
Ttr<sup>hMet30</sup>) 及び変異ヒト化ホモマウス  
(Ttr<sup>hMet30</sup>/ Ttr<sup>hMet30</sup>)を樹立する。

(10) コンパウンドヘテロマウスの樹立  
正常ヒト化マウスと変異ヒト化マウスを  
交配し、ヒト患者で見られるヘテロ接合体マ  
ウス(Ttr<sup>hVal30</sup>/ Ttr<sup>hMet30</sup>)を樹立する。

(11) ヒト化マウスにおける遺伝子発現  
Ttr<sup>hVal30</sup>/ Ttr<sup>hVal30</sup> と Ttr<sup>hMet30</sup>/ Ttr<sup>hMet30</sup> マウス  
を用いて、hVal30 遺伝子の発現の組織特異性、  
発現量をノザンプロット法にて解析する。

(12) 肝臓および血清での発現解析  
4 種類のマウス (Ttr<sup>-/-</sup>, Ttr<sup>+/+</sup>, Ttr<sup>+/hVal30</sup>,  
Ttr<sup>hVal30</sup>/ Ttr<sup>hVal30</sup>) を用いて、肝臓における  
遺伝子発現をノザンプロット法及びウエス  
タンプロット法にて、また血清中の TTR 量を  
ウエスタンプロット法にて解析する。

(13) 機能解析  
Ttr<sup>hVal30</sup>/ Ttr<sup>hVal30</sup> マウスにおいて血中の T3,  
T4, Retinol binding protein (RBP), retinol  
の量を測定する。

(14) 環境要因の影響の解析  
これまでに確立されたトランスジェニック  
クマウスモデルを用いて、環境要因の影響を

解析する。具体的には、0.6-hMet30,  
6.0-hMet30, MT-hMet30, 7.2-hMet30 のマウ  
ス系統を用いて、SPF 環境からコンベンショ  
ナル(CV)な環境に移したときに、血中のヒト  
TTR レベルが影響するかどうか、アミロイド  
沈着が影響されるかどうかを解析する。

(15) MSM/Ms マウスからの ES 細胞の樹立  
MSM/Ms の胚盤胞を理化学研究所のバイオ  
リソースセンターから入手し、まずは通常  
の方法にて ES 細胞の樹立を試みる。

#### 4. 研究成果

(1) 可変型相同組換えベクターの作製  
lox71 および loxP を含む相同組換えベク  
ター「 DT-A-polyA-5' homologous  
region-lox71-PGK-neo-loxP-polyA-lox2272  
-3' homologous region」の作製に成功した。  
貴重なリソースとなりえるので、熊本大学遺  
伝子実験施設の P stock に寄託し、いつでも  
使用できるようにした。

(2) ノックアウト ES クローンの単離  
上記のベクターを ES 細胞に電気穿孔法にて  
導入し、ネオ体制クローンを 96 個単離した。  
これらのクローンから DNA を抽出し、PCR 法  
及びサザンプロット法でスクリーニングし、  
2 つの相同組換えクローンを得ることに成功  
した。

(3) ノックアウトマウスの作製  
上記 targeted ES クローンの 2 種類を用い  
て、桑実胚との凝集法にてキメラマウスを作  
製し、その後の交配により両方のクローンか  
ら Ttr<sup>-/-</sup>マウスの樹立に成功した。

(4) hVal30 replacement ベクターの作製  
replacement ベクター「 lox66-hVal30 cDNA  
-loxP-FRT-PGK- puromycin-FRT」を作製した。

(5) hVal30 replaced ES クローンの単離  
上記 hVal30 replacement ベクターを  
targeted ES クローンに電気穿孔法にて導入し、  
puromycin 耐性クローンを単離したところ  
ほぼ 100%のクローンで最初に挿入した  
PGK-neo 部分が hVal30 cDNA で置換されてい  
た。

(6) hVal30 を持つマウスの作製  
hVal30 replaced ES クローンをを用いてキメ  
ラマウスを作製し、ヒトの野生型遺伝子を持つ  
マウス系統(Ttr<sup>hVal30</sup>)を樹立した。正常マウス  
(Ttr<sup>+/+</sup>)と交配し、正常ヒト化ヘテロ(Ttr/  
Ttr<sup>hVal30</sup>) 及び正常ヒト化ホモマウス  
(Ttr<sup>hVal30</sup>/ Ttr<sup>hVal30</sup>)を樹立した

(7) hMet30 replacement ベクターの作製  
「 lox66-hMet30-loxP-FRT-PGK-puro-FRT」  
の置換ベクターを作製した。

(8) hMet30 replaced ES クローンの作製  
hMet30 replacement ベクターを targeted  
ES クローンに導入することにより、PGK-neo  
部分を hMet30 遺伝子で置換した hMet30  
replaced ES クローンを得る。これもほぼ

100%の効率で置換したクローンを得られた。

#### (9) hMet30を持つマウスの作製

hMet30 replaced ES クローンを用いてキメラマウスを作製し、hMet30 遺伝子を持つマウス系統( $Ttr^{hMet30}$ )を樹立した。正常マウス( $Ttr^{+/+}$ )と交配し、変異ヒト化ヘテロ( $Ttr/Ttr^{hMet30}$ )及び変異ヒト化ホモマウス( $Ttr^{hMet30}/Ttr^{hMet30}$ )を樹立した。

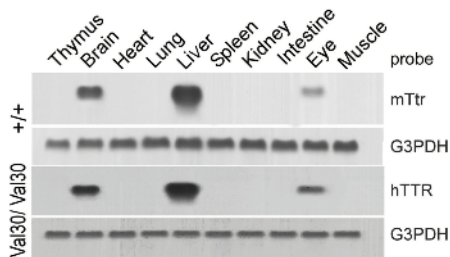
#### (10) コンパウンドヘテロマウスの樹立

正常ヒト化マウスと変異ヒト化マウスを交配し、ヒト患者で見られるヘテロ接合体マウス( $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hMet30}$ )を樹立した。

#### (11) ヒト化マウスにおける遺伝子発現

$Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$  と  $Ttr^{hMet30}/Ttr^{hMet30}$  マウスを用いて、hVal30 遺伝子の発現の組織特異性、発現量をノザンプロット法にて解析したところ、hVal30 遺伝子は、マウス Ttr 遺伝子まったく同じ組織である肝臓、脳脈絡叢、眼で発現していた。また、hVal30 と hMet30 の肝臓での発現量

はまったく同じであった。このことは置換した遺伝子は、まったく同じ組織特異性で発現し、発現量も同じであること、つまり再現性が優れた方法であることを示唆している。



#### (12) 肝臓および血清での発現解析

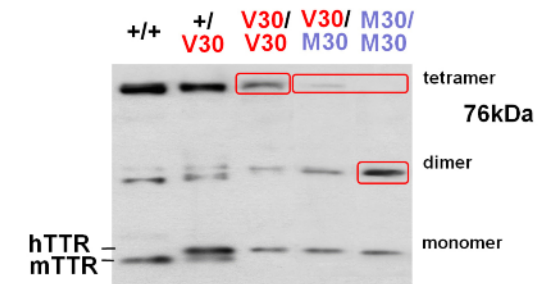
4種類のマウス( $Ttr^{-/-}$ ,  $Ttr^{+/+}$ ,  $Ttr^{+/hVal30}$ ,  $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$ )を用いて、肝臓における遺伝子発現をノザンプロット法で解析した。 $Ttr^{-/-}$ では予想通りマウス Ttr の発現はなかった。 $Ttr^{+/hVal30}$ では、マウス及び hVal30 が発現していた。 $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$ では、hVal30 の発現量は、予想通り  $Ttr^{+/hVal30}$  の約2倍であった。同様にウエスタンプロット法にて、タンパク量を解析した。結果はRNA解析と同じで、 $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$ では、hVal30 の発現量は、予想通り  $Ttr^{+/hVal30}$  の約2倍であった。

それぞれのマウス系統において血清中の TTR 量をウエスタンプロット法にて解析したところ、 $Ttr^{-/-}$ では予想通りマウス Ttr の発現はなかった。 $Ttr^{+/hVal30}$ では、マウス及び hVal30 が発現していた。ところが、 $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$ では、hVal30 の発現量よりも低いことが分かった。

この原因としては2つの可能性が考えられた。第1は分泌障害であり、第2は hVal30 からなる4量体の不安定化である。第1の可能性は、肝臓の組織を電子顕微鏡によって解析したが、とくに分泌障害を思わせる所見は

なかった。また、小胞体のマーカである calnexin とゴルジ体のマーカである GM130 の抗体を用いて、ヒト TTR との免疫染色を行ったところ、いずれも共染され、分泌は正常に行われていることが示唆された。

そこで、 $Ttr^{+/hVal30}$ 、 $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$ 、 $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hMet30}$ 、 $Ttr^{hVal30}/hMet30$ 、マウスを用いて、native gel electrophoresis を行ったところ、mouse Ttr と hVal30 (V30) とのヘテロ4量体に比し、hVal30 (V30) による4量体の安定性が非常に悪いことが分かった。また、hMet30 による4量体は、hVal30 (V30) による4量体よりも安定性が悪いが、hMet30 (M30) のダイマーは安定であることが分かった。このことは、ホモ患者がヘテロ患者よりも軽症であることの原因が、ダイマーの安定性にあることを示唆している。



もともと Ttr は、Retinol binding protein (RBP) と結合し、血中に分泌されることが知られている。したがって、不安定性の原因の一つは、ヒト TTR とマウス RBP との結合親和性が悪いためであると推察された。そこで、抗マウス RBP 抗体を用いた免疫沈降法によって解析したところ、ヒト TTR が沈降してくる量は非常に少ないこと、したがってヒト TTR とマウス RBP の結合親和性の低さが、ヒト Val30 からなる4量体の安定性が悪いことであることが示唆された。

#### (13) 機能解析

$Ttr^{-/-}$ 、 $Ttr^{+/+}$ 、 $Ttr^{+/hVal30}$ 、 $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$  マウスにおいて血中の T3、T4、Retinol binding protein (RBP)、retinol の量を測定した。T3 については、 $Ttr^{+/+}$  に比し、 $Ttr^{-/-}$ 、 $Ttr^{+/hVal30}$ 、 $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$  ではいずれも10%程度の低下を示した。T4 については、 $Ttr^{+/hVal30}$  が10%の低下、 $Ttr^{-/-}$  と  $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$  では40-50%の低下を示した。Retinol については、 $Ttr^{+/hVal30}$  が40%の低下、 $Ttr^{-/-}$  と  $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$  では95%の低下を示した。RBP については、 $Ttr^{+/hVal30}$  が10%の低下、 $Ttr^{-/-}$  と  $Ttr^{hVal30}/Ttr^{hVal30}$  では60%の低下を示した。これらのことは、T3/T4 では thyroglobulin やアルブミンといった結合タンパクがあるため影響は少ないこと、しかし、retinol や RBP については TTR しか結合タンパクが存在しないため、影響が大きいことを

示唆している。

(14) 環境要因の影響の解析

0.6-hMet30, 6.0-hMet30, MT-hMet30, 7.2-hMet30のマウス系統を用いて、SPF環境からコンベンショナル(CV)な環境に移したときに、血中のヒトTTRレベルが影響するかどうか、アミロイド沈着が影響されるかどうかを解析した。まず、血中レベルは、環境には左右されなかった。これらのマウスをCVで飼育するとアミロイド沈着は観察されたが、SPFで飼育すると、全例アミロイド沈着は見られなかった。そこで、SPFで2年間飼育、SPFで14カ月飼育後8カ月CVで飼育、SPFで8カ月飼育後CVで14カ月飼育、24か月CVで飼育の4グループについてアミロイド沈着を解析したところ、それぞれアミロイド沈着したマウスの数は0/17, 1/14, 6/19, 8/8であり、CVでの飼育期間が長ければアミロイド沈着も増強されることを明らかにした。

(15) MSM/Ms マウスからのES細胞の樹立

MSM/Msの胚盤胞を理化学研究所のバイオリソースセンターから入手し、通常の方法によりES細胞の樹立に成功した。また、B6xBDF1由来の胚盤胞への注入により、効率よく生殖キメラを作製できることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 11 件)

1. Araki, M., Araki, K. and Yamamura, K. International gene trap project: Towards gene-driven saturation mutagenesis in mice. *Current Pharmaceutical Biotechnology* [査読有] 10: 221-229, 2009.
2. Araki, K., 他 7 名 (山村 7 番目) Establishment of germline-competent embryonic stem cell lines from the MSM/Ms strain. *Mammal. Genome* [査読有] 20: 14-20, 2009.
3. Zhao, G. 他 8 名 (山村 8 番目) Inconsistency between hepatic expression and serum concentration of transthyretin in mice humanized at the transthyretin locus. *Genes Cells* [査読有] 13: 1257-1268, 2008.
4. Inoue, S. 他 12 名 (山村 12 番目) Specific pathogen free conditions prevents transthyretin amyloidosis in mouse models. *Transgenic Res.* [査読有] 17: 817-826, 2008.
5. Wang, J. 他 5 名 (山村 5 番目) Expression pattern of the serine protease inhibitor Kazal Type 3 (Spink3) gene

during the mouse embryonic development. *Histochem. Cell Biol.* [査読有] 130: 387-397, 2008

6. Kawakami, M. and Yamamura, K. Cranial bone morphometric study among mouse strains. *BMC (BioMed Central) Evolutionary Biol.* [査読有] 8: 73-83, 2008.
7. Yamamura, K. and Araki, K. Gene trap mutagenesis in mice; New perspectives and tools in cancer research. *Cancer Science* [査読有] 99: 1-6, 2008.
8. Araki, K., Araki, M. and Yamamura, K. [査読有] Negative Selection with the Diphtheria toxin A fragment Gene Improves Frequency of Cre-Mediated Cassette Exchange in ES Cells. *J. Biochem.* [査読有] 140: 793-798, 2006.
9. Terazaki, H. 他 5 名 (山村 3 番目) Immunization in familial amyloidotic polyneuropathy: counteracting deposition by immunization with a Y78F TTR mutant. *Lab. Invest.* [査読有] 86: 23-31, 2006.
10. Miura, K., 他 10 名 (山村 9 番目) Impaired expression of Importin / karyopherin 1 leads to post-implantation lethality. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* [査読有] 341: 132-138, 2006.
11. Taniwaki, T. 他 13 名 (山村 12 番目) Characterization of an exchangeable gene trap using pU-17 carrying a stop codon-beta-gal cassette. *Dev. Growth Differ.* [査読有] 47:163-172, 2005

[学会発表](計 23 件)

1. 山村研一: ヒト疾患の遺伝学的解析のためのモデルマウス(シンポジウム), 日本文学遺伝学会第53回大会, 2008.9.27-30, 横浜
2. Araki, K. et al: Establishment of embryonic stem cell lines derived from MSM/Ms strain originated from *Mus musculus molossinus.*, 41<sup>st</sup> Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists, 2008. May 28-30, 徳島
3. 荒木喜美 他: MSM/Ms 系統からの生殖系列キメラが高率に得られるES細胞株の樹立, 日本実験動物科学技術 2008, 2008.5-15-17, 仙台
4. 荒木喜美 他: MSM/Ms 及び JF1/Ms 系統からのES細胞株の樹立, 第30回日本分子

- 生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会, 2007.12.11~15, 横浜
5. Araki, K. et al: ESTABLISHMENT OF EMBRYONIC STEM CELL LINES DERIVED FROM MSM/MS STRAIN ORIGINATED FROM MUSCULUS MOLOSSINUS., 21<sup>st</sup> International Mammalian Genome Conference IMGC2007, 2007.Oct.28-Nov.1, 京都
  6. 山村研一: ヒト疾患研究における動物モデルの有用性と世界の現状(教育講演), 第 52 回大会日本人類遺伝学会, 2007.9.12-15, 東京
  7. 趙綱 他: Knock-in human TTR gene into mouse Ttr locus by Cre-loxP system for the a mouse model of ATTR, 第 24 回日本疾患モデル学会総会, 2007.8.21-9.1, つくば
  8. 山村研一: 世界のノックアウトプロジェクト(シンポジウム), 第 24 回日本疾患モデル学会総会, 2007.8.21-9.1, つくば
  9. 荒木喜美 他: ES 細胞において *lox71* 部位に対して良い組換え効率を示す新たな RE 変異 *lox* の探索, 第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会合同大会, 2007.5.28-30, 福岡
  10. 藤田恒久 他: C57BL/6N 由来 ES 細胞 RENKA 株の核型解析について, 第 54 回日本実験動物学会総会, 2007.5.23-25, 東京
  11. Yamamura, K.: Gene-environment Interactions in Mammalian Development and Disease, The 22<sup>nd</sup> International Kumamoto Medical Bioscience Symposium, 2006.10.23-24, Kumamoto
  12. 山村研一: 優性遺伝病マウスモデルおよび大規模疾患モデル開発, 日本人類遺伝学会 第 51 回大会 The 51th Annual Meeting of the Japan Society of Human Genetics, 2006.10.17-20, 米子
  13. 山村研一: ポストゲノムにおける疾患モデルの意義, 第 3 回日本病理学会カンファレンス日本病理学会カンファレンス 2006 東京「疾患モデルの命題—本質を見極める—」, 2006.8.3~4, 東京
  14. 山村研一: MSM/Ms 由来の ES 細胞の樹立とノックアウトプロジェクト, 平成 17 年度国立遺伝学研究所研究会第 20 回モノシヌス研究会, 2006.6.15-16, 熱海
  15. Araki, K. et al: Negative selection with the DT-A gene improves frequency of Cre-mediated cassette exchange in ES cells, 日本発生生物学会第 39 回大会, 2006.5.31-6.3, 広島
  16. 中務胞 他: C57BL/6 由来 ES 細胞株 RENKA を用いた遺伝子破壊マウスの作製について, 第 53 回日本実験動物学会総会, 2006.5.11-13, 神戸
  17. 山村研一: ポストゲノムにおける遺伝子改変動物の役割, 教育セミナーフォーラム 2006 テーマ「実験動物及び畜産分野におけるトランスジェニック技術」(遺伝子組換え技術入門), 2006.3.25, 東京
  18. 山村研一: ヒト疾患の解析における新しいマウスモデル, 第 3 回日本癌学会カンファレンス 動物モデルによる新時代のがん研究発症機構から治療まで, 2006.3.9-11, 長野
  19. 荒木正健 他: 可変型遺伝子トラップクローンの *geo/EGFP* 遺伝子置換で見られた表現型の変化, 第 28 回日本分子生物学会, 2005.12.7-10, 福岡
  20. 春名享子 他: Feeder-free TT2 ES 細胞を用いた可変型遺伝子トラップによる変異マウスライン樹立, 第 28 回日本分子生物学会, 2005.12.7-10, 福岡
  21. Araki, M. et al: Post-insertional engineering of trapped alleles using site-specific recombination in exchangeable trap clones, International Symposium on Germ Cells, Epigenetics, Reprogramming and Embryonic Stem Cells, November 15-18. 2005, 京都
  22. 山村研一: ヒト疾患モデルの大規模作製, 日本人類遺伝学会第 50 回大会, 2005.9.19-22, 岡山
  23. 荒木喜美 他: ヘテロ接合体の掛け合わせで得られた胚盤胞の培養によるホモ接合体 ES 細胞の効率の樹立, 第 38 回日本発生生物学会, 2005.6.1-4, 仙台
- 〔その他〕  
ホームページに研究情報が掲載されている  
[http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/divisions/developmental\\_genetics/index.html](http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/divisions/developmental_genetics/index.html)
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
山村 研一(KENICHI YAMAMURA)  
熊本大学・発生医学研究センター・教授  
研究者番号: 90115197
  - (2) 研究分担者  
川上 穰(KAWAKAMI MINORU)  
熊本大学・発生医学研究センター・助教  
研究者番号: 40363527