

◆次世代ゲノム解析技術課題の貢献 【参考資料4】

課題名	転写因子に対する抗体の遺伝子免疫による迅速作製システムの開発		①メチル化ボディマップと蛋白質DNA相互作用情報の統合 ②ショットガン戦略による高分解能メチル化ボディマップ
研究代表者氏名	千葉 丈(東京理科大学)		伊藤隆司(東京大学)
①横軸と縦軸に対する貢献	横軸	転写因子抗体作製システムの開発を進め、理化学研究所との共同研究により、これまで抗体が作製されていない転写因子およびRNA結合タンパク質に対するポリクローナルおよびモノクローナル抗体を作製した。作製した抗体(転写因子に対するもの6種類、RNA結合タンパク質に対するもの4種類)を理化学研究所に送付し、その抗体の一つ(抗Dicer1抗体)を用いた研究の成果は論文として投稿(Ando, Y. et al., Two-step cleavage of hairpin RNA with 5' overhangs by human DICER, submitted)。他の抗体を用いた転写因子ネットワーク研究は継続して進行している。	①「次世代ゲノム解析技術の開発」プログラムとして、新規メチル化DNA結合タンパク質の同定を行い、理化学研究所開示のヒト転写因子プロモータに関するHM-PCRアッセイ系の確立に貢献した。日立製作所のY2Hライブラリ等、GNPの情報リソースも活用し十分な成果をあげた。なお、平成18年度以降は後継課題(「ショットガン戦略による高分解能メチル化ボディマップング」)にも発展した。②開発した方法の縦軸研究等への貢献は限られたものであった。
	縦軸	上記の転写因子に対するモノクローナル抗体の一つ抗 hairy and enhancer of split 1 (Hes1)抗体を要請により京都大学の西川先生に送付した。抗Hes1モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学染色により、マウス胎児中の背側終脳および脊髄内で、マウス内在性Hes1が特異的に検出され(未発表)、抗体の有用性が示された。	技術情報は提供したが、活用には至らなかった。
②文科省の評価(平成20年8月)以降の進展	文科省の評価(平成20年8月)が課題の開始後2年4ヶ月であったため、成果の達成の途中での評価であった。その後の8ヶ月で抗体の迅速作製システムの開発のために必須となる新たな抗体の検出/定量法の確立に成功し、それまでに開発した遺伝子免疫法(Kimura, R. et al., Enhancement of antibody response by High Mobility Group protein B1-based DNA immunization. J. Immunol. Methods, in press)と組み合わせることで抗体の迅速作製システムを完成させることができた。新たな抗体の検出/定量法では、任意のタンパク質にビオチンリガーゼによってビオチン化されるタグ(Bio-tag)を付加し、そのBio-tag付加タンパク質をヒト細胞株内でビオチンリガーゼとともに発現させて、細胞内でビオチン化させることを技術の主幹としている。この細胞の破砕物をアビディンコートプレートのウェルに加えて、ビオチン-アビディン複合体として抗原タンパク質をトラップさせ、これに抗体を反応させて検出/定量を行う(kimura, R. et al., Novel ELISA Using Intracellularly Biotinylated Antigen for Detection of Antibody Following DNA Immunization, Jpn J. Inf. Dis. 63, 41-48, 2010)。確立した遺伝子免疫法では、精製した抗原を必要としない。また、新たに確立した細胞内ビオチン化法では、抗体の検出/定量にも精製した抗原を必要としない。この2つの方法が確立できたことで、精製の困難な転写因子などの抗原であっても、免疫沈降法に利用できる抗体を作製できるようになった。これらの結果から、課題であった遺伝子免疫を用いた抗体の迅速作製システムを完成させることができた。(データ等公開) 抗体がより広く用いられるようにするために、希望する研究者に配布することとし、ゲノムネットワークプロジェクトのプラットフォーム(http://genomenetwork.nig.ac.jp/)にリストを掲載した。		次世代シーケンサーによるバイサルファイトショットガンシーケンス(BSS)に関して、制限酵素を用いない新規鑄型調製法の開発を進めた。その結果、従来法の1/10量の出発材料から、増幅の偏りによるデータ精度の劣化を招くPCRを一切なしでBSSを行う、高感度・高精度技術の開発に成功した。更に、開発モデルであるアカパンカビのメチル化に関する新しい法則の発見にも至った。現在、本技術の更なる高感度化(従来法の1/1000を達成)・高精度化・高出力化が革新的細胞解析研究プログラム(セルイノベーション)において進められており、世界最高水準の高感度解析技術の創出に至っている。(データ公開) ・バイサルファイトシーケンス:200万readすべてを一般に公開済み。

◆次世代ゲノ

課題名	精子幹細胞の遺伝子改変によるがん疾患モデルラットの作成	新技術を基盤とした革新的遺伝子解析システムの開発
研究代表者氏名	篠原隆司(京都大学)	関根光雄(東京工業大学)
①横軸と縦軸に対する貢献	横軸	<p>・ヒト疾患モデルラット、あるいは薬剤の有効性、毒性の解析に広く利用されるラットの有用性をさらに大きく拡大するものであり、ラット精子幹細胞の遺伝子改変技術の基盤を確立した。</p> <p>・短鎖miRNAの検出法の開発、SMAP法の改良研究などの様々な研究グループとの連携を持つ新たな研究に発展し、プロジェクトに貢献した。 (林崎グループのSMAP法における問題点の解消のために、本研究で開発した人工塩基の利用について討議し、共同研究契約を締結)</p>
	縦軸	<p>古関グループ、相賀グループ、真貝グループのそれぞれにGS細胞の樹立および培養方法、遺伝子導入法を指導し、細胞の譲渡を行なった。</p> <p>—</p>
②文科省の評価(平成20年8月)以降の進展	<p>遺伝子トラップクローンのホモ個体化について引き続き研究に取り組んでいる。3報の関連論文を発表済み。(データ公開)</p> <p>・トラップクローン遺伝子リスト:55サンプルすべて一般に公開。</p> <p>・樹立済ラットGS細胞の系統名リスト:11サンプルすべて一般に公開。</p>	<p>本技術は、現在、開発した遺伝子解析システムの実用化のため、企業の新型多孔質ガラスプレートを利用して、チップ化を検討している。また、本技術は、遺伝子解析ににとどまらず、遺伝子治療などにも活用できる。そのため、現在筋ジストロフィー病のエキソンスキッピング法による治療剤としても研究を応用発展させている。とくに、動物モデルでは有望な結果を得ている。</p>

特許出願済リスト(1/2)

【参考資料5】

塗りつぶしたものは横軸研究と縦軸研究の積極的連携が図られていた課題に関するもの

	発明者	発明の名称	出願日	出願番号	登録状況
1	岡崎 康司, 徳澤 佳美 油谷 浩幸, 堤 修一 若林 賢一	骨芽細胞分化マーカー、骨形成促進剤及び骨形成抑制剤	2009/03/13	特願2009-061208	未公開
2	浅原 弘嗣	I d 2 及び/又は I d 3 の発現を抑制するための発現抑制剤、及びその利用	2009/03/10	特願2009-055911	未公開
3	米原 伸, 桐山 真利 石川 冬木, 齊藤 基樹	細胞増殖抑制剤及びそのスクリーニング方法	2009/03/05	特願2009-052628	未公開
4	白澤 専二, 藤本 崇宏 角田 俊之, 土井 佳子 小柳 緑	ZFAT遺伝子発現抑制RNA	2008/09/08	PCT/JP2008/66155	進歩性について補正対応後外国出願(3-5ヶ国)予定
5	井上 聡, 池田 和博	子宮癌、乳癌、及び膀胱癌の予防乃至治療に好適な二本鎖核酸分子、癌細胞増殖抑制剤、並びに医薬	2008/06/20	PCT/JP2008/61346	日本、米国 EU (英独仏) 移行手続き済み
6	井上 聡, 池田 和博	癌の予防乃至治療法に好適な二本鎖核酸分子、癌細胞増殖抑制剤、並びに医薬 前立腺癌及び膀胱癌の予防乃至治療に好適な二本鎖核酸分子、癌細胞増殖抑制剤、並びに医薬	2009/03/11 2008/03/11	PCT/JP2009/054673 特願2008-060757	PCT出願中(未移行)
7	五條堀 孝, 池尾 一穂, 岡山 利次	相同性検索システム、相同性検索装置および相同性検索方法	2007/03/02	特願2007-052583; PCT/JP2008/053647	日本審査請求検討中 米国インド審査中
8	岡崎 康司, 八木研 水野 洋介	骨粗鬆症の予測分析方法、並びに、骨粗鬆症の治療剤及びそのスクリーニング方法	2007/01/31	特願2007-022359	審査未請求
9	岡崎 康司, 八木 研, 水野 洋介	間葉系細胞の分化抑制剤及び分化促進剤、並びに医薬及びスクリーニング方法	2007/01/31	特願2007-020893	審査未請求
10	高橋 智, 楊川 堯基 下畑 誓	Mafk/MafA遺伝子改変非ヒト動物及び該非ヒト動物の作成方法	2006/12/22	特願2006-345839	審査中
11	柳川 弘志, 宮本 悦子, 鷲尾 尊規 石坂 正道	配列データの取得方法ならびにそれらを利用したターゲット遺伝子の抽出方法および蛋白質の設計方法	2006/12/06	特願2006-329313	審査未請求

(太字:GNP研究課題代表者 及び 分担研究代表者等)

特許出願済リスト(2/2)

	発明者	発明の名称	出願日	出願番号	登録状況
12	篠原 隆司, 篠原 美都	精原幹細胞のインビトロ増殖方法	2006/10/25	特願2006-290111	審査未請求
13	井上 聡, 池田 和博	子宮癌及び乳癌の予防乃至治療に好適な二本鎖核酸分子、癌細胞増殖抑制剤、並びに医薬	2006/06/20	特願2007-162641	PCT/JP2008/61346→No.5
14	岡崎 康司, クローチキン・イーゴル, シオンバッハ・クリスチャン	A Pharmaceutical Composition for Treating and Disorder Associated with Peroxisomal Biogenesis and Function	2006/06/09	PCT/JP2006/312085	米国特許登録済み 日本審査請求中
15	関根 光雄, 清尾 康志 大窪 章寛, 田中 邦彦	オリゴヌクレオチド固定化固相担体	2006/03/10	特願2006-066396 PCT/JP2007/054645	日本審査未請求 欧州米国に審査請求中
16	関根 光雄, 清尾 康志 大窪 章寛, 坂本 一石 佐々見 武志	オリゴヌクレオチド誘導體, 遺伝子検出用プローブ及びDNAチップ	2006/02/28	特願2007-505962 PCT/JP2006/303772	日本審査中 欧州米国に審査請求、米国については範囲縮小再審査
17	林崎 良英, 鈴木 治和, 伊藤 昌可	II S型制限酵素を用いる翻訳終始コドンの除去方法	2005/12/15	特願2005-362337	審査未請求
18	関根 光雄, 清尾 康志, 大窪 章寛	固体支持体及びDNAチップ	2005/09/12	特願2005-263722	審査未請求
19	柳川 弘志, 宮本 悦子	遺伝子および/又は蛋白質のデータベースを用いた相互作用マップの作成方法、ならびに、それを実現するためのソフトウェアおよび装置	2004/11/22	特願2005-515680	審査未請求
20	柳川 弘志, 宮本 悦子 堀澤 健一	c-Jun蛋白質と複合体を形成する蛋白質、及び、それをコードする核酸、ならびに、それらの利用方法	2004/11/19	特願2005-516432	審査中

平成21年4月以降 3件

	発明者	発明の名称	出願日	出願番号	登録状況
21	井上聡, 池田和博	「糖代謝、脂質代謝、肥満、及び寿命を制御する制御遺伝子、及びタンパク質、並びにスクリーニング方法」	2010/01/14	特願2010-006021	未公開
22	影山 龍一郎、	多能性幹細胞からの神経細胞の分化誘導方法	2009/07/16	特願2009-168045	未公開
23	林崎 良英, 鈴木 治和, シンジエイ 鈴木 貴紘	転写因子探索方法	2010/01/08	特願2010-17419	未公開

(太字:GNP研究課題代表者 及び 分担研究代表者等)²

◆ゲノムネットワークプロジェクトと科研費「特定領域研究」ゲノム4領域の関係について 【参考資料6】

	ゲノムネットワークプロジェクト	科研費「特定領域研究」ゲノム4領域
目的・研究内容	<p>ヒトの転写制御系のネットワークを解明し、そのデータを活用した個別生命に焦点を当てたネットワーク解析を行い、生命活動を成立させているネットワークを明らかにする。</p> <p>(1) ゲノム機能情報の解析 ヒトゲノムの発現調節領域の解析、遺伝子発現に係る生体分子(タンパク質など)間の相互作用の解明等といった、ゲノム機能に関するネットワークの基礎データについて網羅的解析を行う。</p> <p>(2) 次世代ゲノム解析技術の開発 現在のゲノム解析技術を遥かに凌駕するような解析技術又はそれらの要素技術の開発を行う。</p> <p>(3) 個別生命機能の解析 生命機能に関する専門知識を持った研究者が、「ゲノム機能情報の解析」で整備されるゲノム機能に関する基盤情報を用いて、専門分野に特化した生体分子のネットワーク解析を実施する。</p> <p>(4) ヒトゲノムネットワークプラットフォームの構築 ヒトゲノムに関連する研究・技術の実績を有する国立遺伝学研究所を拠点にして、「ゲノム機能情報の解析」等の研究により得られたデータや既存のゲノム情報を有機的に結合し、「個別生命機能の解析」の研究に提供できるような環境を構築する。</p> <p>(5) 動的ネットワーク解析技術開発 これまで得られた転写制御の静的な分子間相互関係マップの成果を土台として、ネットワークの動的な特質を解明するための技術開発を目指す。そのために、体系的データ取得を行う研究者と数理学、制御理論、バイオインフォマティクスの研究者とが連携して動的ネットワークの研究を行う。</p>	<p>領域1 ゲノム機能解析とインフォマティクスを駆使した生命システムの解明(生命システム情報) ・ゲノムを網羅的に機能解析し、そこから得られた情報を計算機上で統合・解析を行う。 ・生命システムのメカニズムを解明することを目指す。</p> <p>領域2 比較ゲノム解析による進化・多様性のゲノム基盤の解明(比較ゲノム) ・動植物のゲノム情報を比較し、生物に進化や多様化がもたらされた要因を探る。 ・生物同士、あるいは生物と環境の相互作用が、ゲノムレベルでどのように行われているか探求する。</p> <p>領域3 ゲノム情報にもとづく医学、微生物学の新展開(応用ゲノム) ・得られたゲノム情報を病気の予防・診断・治療、あるいは創薬に応用する方法を探る。 ・実社会での生物ゲノムの利用法について考える。 ・ゲノム研究と社会との接点に関する研究を行う。</p> <p>領域4 生命のシステマ的理解に向けたゲノム研究推進のための総合的基盤構築(基盤ゲノム) ・様々な生物のゲノム配列の決定やヒトゲノム中の各個人ごとの違いを精査する。 ・データベースを構築。 ・領域1から領域3までの研究支援的な活動を行う。</p>
研究期間	平成16年度～平成20年度	平成16年度～平成21年度
予算額	平成16年度から平成20年度までの5年間 総額 137億円	平成16年度から平成21年度までの6年間 総額 153億円
参画研究者数(課題責任者数)	参加研究者数 のべ913人(各年度の委託費部分) 課題責任者数 38人	参加研究者数 のべ364人 領域代表者数 4人