

講座名（専門科目名）	生体防御医学（遺伝子機能解析学）	教授氏名	伊川 正人
学生への指導方針	研究テーマは、十分な討論の後、独創性、新規性を検証したうえで決定する。遺伝子改変動物の作製は体外受精・胚操作・ES細胞の培養・キメラ作製などの操作を必要とする実験があるため、受精・発生の基礎を十分に学んでもらう。またゲノム編集を含む遺伝子組換え技術一般についても基本技術として習得してもらえるように指導する。		
学生に対する要望	実験の進行はその人の個性やペースに応じたもので結構であるが、何かを学びたいというだけでなく、何かを成し遂げたいと希望するような人材を求む。		
問合せ先	(Tel) 06-6879-8375	担当者	伊川（小西）
	(Email) ikawasec@biken.osaka-u.ac.jp		
その他出願にあたっての注意事項等	ラボ HP: https://egr.biken.osaka-u.ac.jp/ を確認のうえ、事前に担当者にメール連絡すること。		

ヒトやマウスのゲノムプロジェクトが一応の完了を迎えた現在、人工的に遺伝子を操作した遺伝子組換え動物が、生物学の基礎研究や疾病の研究に重要な役割を果たすようになってきている。我々は個体レベルでの遺伝子機能解析ツールを開発するとともに、生殖生物学の研究を行っている。

我々は世界に先駆けて発光オワンクラゲの GFP 遺伝子を組み込んだ蛍光マウスを作製し、それを用いて哺乳類の生殖機構、特に生命誕生の礎となる受精メカニズムの解明を進めている（図 1, 2）。

1. 個体レベルでの遺伝子機能解析法の開発

我々は世界に先駆けて発光オワンクラゲの GFP 遺伝子を組み込んだトランスジェニック (TG) マウスを作製し、それを用いて雌雄性差の研究や生殖細胞の性分化機構を研究している（図 1）。また細胞に効率よく感染して、宿主ゲノムに目的遺伝子を組み込み、安定して遺伝子発現するレンチウイルスベクターを応用した遺伝子組換え動物の作製や、最近では CRISPR/Cas システムを用いたマウス個体でのノックアウト (KO) や、ゲノム編集技術の開発に取り組んでいる（図 2）。



図 1) GFP を全身で発現するグリーンマウス。紫外線を当てると緑色蛍光を発する。 *FEBS Lett* 1997

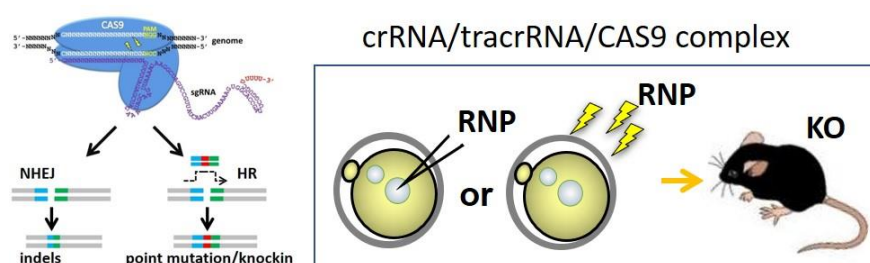


図 2) 任意の標的ゲノム領域に結合した gRNA が CAS9 蛋白質を誘導し 2 本鎖 DNA が切断され、DNA 修復機構によりゲノム編集が起こる (左)。CAS9/gRNA 発現プラスミドを前核期胚に注入すると、遺伝子改変マウスが誕生する(右)。 *Sci Rep* 2013, 2016

2. 生殖生物学研究

遺伝子組換え動物を作製して解析を行うことで、受精や着床妊娠という現象を分子生物学的に解明しようとしている。我々はゲノム編集等により多数の KO マウスを作製して解析し、精巣特異的に発現する遺伝子の多くは必須でないことを明らかにした。その一方で、妊孕性に必須な遺伝子に焦点を絞って解析を進め、精細胞特異的 ER シャペロン群 (*Clgn*, *Calr3*, *Pdilt*) が精子の卵管移行や透明帯結合を制御すること、精子膜タンパク質である *IZUMO1* が卵子との融合に必須であること、精子カルシニューリン (*PPP3CC/PPP3R2*) が精子の運動に必要なこと、などを明らかにしている（図 3, 4, *Nature* 1997, 2005, *Science* 2013, 2015, *PNAS* 2011, 2012, 2013, 2016, 2017, 2019, etc）。

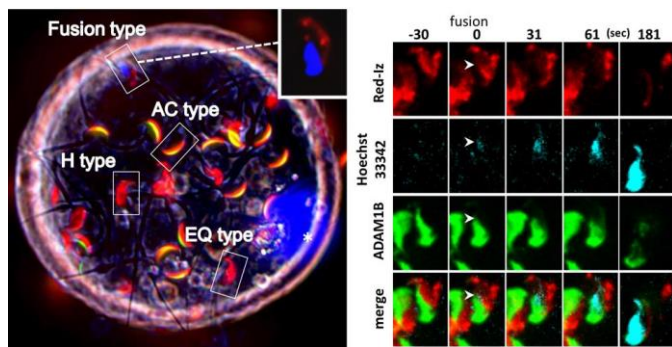


図 3) *Izumo1* KO マウスの精子は透明帯を通過できるが、卵子に融合できない (*Nature* 2005)。IZUMO1 に蛍光タンパク質を組み込むことで、受精の瞬間の観察に成功した (*JCS* 2012)。

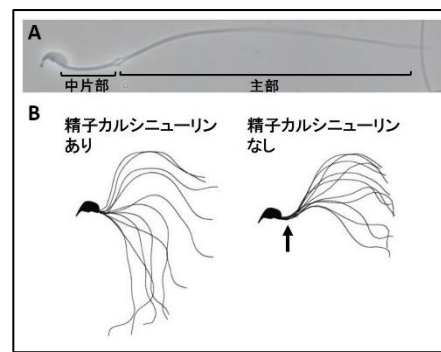


図 4) 精子カルシニューリン(PPP3CC/PPP3R2) は精子の正常な運動に必要で、カルシニューリン阻害剤は、精子尻尾の中片部が屈曲できず不妊になることを明らかにした (*Science* 2015)。

さらに最近、精巣から分泌された NELL2 が管腔を通過して精巣上体の分化に働くルミクラインシステムを分子レベルで明らかにすることにも成功した (*Science* 2020)。また、IZUMO 以外に卵との融合に必須な精子タンパク質を複数同定することに成功している (*PNAS* 2020, 2020)。他にも、遺伝子改変マウスを用いたアプローチから幅広く生殖生物学研究を行っているので、興味のある方は HP をご覧ください。

代表論文 10 編

1. NELL2-mediated lumicrine signaling through OVCH2 is required for male fertility.
Kiyozumi D, et al.
Science. 368:1132 (2020).
2. Bi-allelic DNAH8 variants lead to multiple morphological abnormalities of the sperm flagella and primary male infertility.
Liu C, et al.
Am J Hum Genet. 107:330-341 (2020).
3. Sperm proteins SOF1, TMEM95, and SPACA6 are required for sperm-oocyte fusion in mice.
Noda T, Lu Y, et al.
PNAS. 117:11493 (2020).
4. Identification of multiple male reproductive tract-specific proteins that regulate sperm migration through the oviduct in mice
Fujihara H, Noda T, Kobayashi K, et al.
PNAS. 2019;116(37):18498-18506
5. Sperm calcineurin inhibition prevents mouse fertility with implications for male contraceptive
Miyata H, et al.
Science. 2015;350(6259):442-5.
6. MiR-200b and miR-429 Function in Mouse Ovulation and Are Essential for Female Fertility
Hasuwa H, et al.
Science. 2013;341(6141):71-3.
7. Pravastatin induces placental growth factor (PGF) and ameliorates preeclampsia in a mouse model
Kumasawa K, Ikawa M, et al.
PNAS. 2011; 108:1451-1455.
8. Complementation of placental defects and embryonic lethality by trophoblast-specific lentiviral gene transfer
Okada Y, et al.
Nat Biotechnol. 2007; 25:233-237.
9. The immunoglobulin superfamily protein Izumo is required for sperm to fuse with eggs
Inoue N, et al.
Nature. 2005; 434:234-238.
10. The putative chaperone calmeglin is required for sperm fertility
Ikawa M, et al.
Nature. 1997; 387:607-611.