

改良遺伝子トラップ法による新規発生制御遺伝子の単離と機能解析

著者	浅野 雅秀
著者別表示	Asano Masahide
雑誌名	平成13(2001)年度 科学研究費補助金 特定領域研究 (A) 研究概要
巻	2001
ページ	2p.
発行年	2018-03-28
URL	http://doi.org/10.24517/00060924



改良遺伝子トラップ法による新規発生制御遺伝子の単離と機能解析

Research Project

All

Project/Area Number

13045014

Research Category

Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas (A)

Allocation Type

Single-year Grants

Review Section

Biological Sciences

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

浅野 雅秀 金沢大学, 医学部, 教授 (50251450)

Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)

橋本 憲佳 金沢大学, 医学部, 助手 (50242524)

Project Period (FY)

2001

Project Status

Completed (Fiscal Year 2001)

Budget Amount *help

¥3,100,000 (Direct Cost: ¥3,100,000)

Fiscal Year 2001: ¥3,100,000 (Direct Cost: ¥3,100,000)

Keywords

遺伝子トラップ / 発生制御転写因子 / 原腸陥入 / 中胚葉誘導 / アデノウイルスベクター

Research Abstract

遺伝子トラップは、トラップされる遺伝子の焦点を絞ることが難しいという欠点があったので、我々はレチノイン酸などの液性因子をES細胞に作用させるスクリーニングを工夫してきた。この方法で受容体型のチロシンキナーゼであるEphA2遺伝子のトラップに成功し、その変異マウスの解析からEphA2が尾部の脊索形成に重要な働きをしていることを明らかにした。本研究では更に改良を加えて、アデノウイルスベクターを用いて転写因子をES細胞で発現させることで、発生制御転写因子によって発現調節される遺伝子をトラップすることを試みる。本年度はトラップベクターの改良とアデノウイルスベクターの構築を行った。まず、トラップベクターであるが、以前より我々はSorianoらが開発したレトロウイルストラップベクターを用いていたが、遺伝子をトラップした後にはトラップベクターを除去してレスキュー実験ができるように、(Cre-1oxPシステムを導入して改良を行った。次に発生制御転写因子としてBrachyury, HNF-3β, Pax-1を用いることにし、これらを強発現するアデノウイルスベクターをCOS-TPC法により作製した。これらの転写因子を大量に発現させると293細胞に対して毒性が見られたの

で,293細胞でベクターを増殖する時には挿入した転写因子遺伝子が発現しないように,1oxPで挟んだスタッファーをプロモーターの下流に入れたアデノウイルスベクターを用いることで作製に成功した。このアデノウイルスベクターを細胞に感染させる時に,同時にCreを発現させることによって,転写因子遺伝子の発現が誘導されることをノーザンとウエスタンで確認することができた。現在,レトロウイルスベクターをES細胞に感染させて,トラップクローンを大量に単離し,構築したアデノウイルスベクターをそれらに感染させることによって,発現制御転写因子によって発現がコントロールされているトラップ遺伝子の探索を行っている。

Report (1 results)

2001 Annual Research Report

Research Products (6 results)

All Other

All Publications

[Publications] Naruse, C., et al.: "Involvement of EphA2 in the formation of the tail notochord via interaction with ephrinA1"Mechanisms of Development. 102. 95-105 (2001) ▼

[Publications] Fukamauchi, F., et al.: "TAG-1-deficient mice have marked elevation of adenosine A1 receptors in the hippocampus"Biochem. Biophys. Res. Commun.. 281. 220-226 (2001) ▼

[Publications] Nakae, S., et al.: "IL-1 enhances T cell-dependent antibody production through induction of CD40L and OX40 on T cells"Journal of Immunology. 167. 90-97 (2001) ▼

[Publications] Kotani, N. et al.: "Knockout of mouse β 1, 4-galactosyltransferase-1 gene results in a dramatic shift of outer chain moieties of N-glycans from type 2 to type 1 chains in hepatic membrane and plasma glycoproteins"Biochemical Journal. 357. 827-834 (2001) ▼

[Publications] Nakae, S., et al.: "IL-1 α , but not IL-1 β , is required for contact-allergen-specific T cell activation during the sensitization phase in contact hypersensitivity"International Immunology. 13. 1471-1478 (2001) ▼

[Publications] Nakae, S., et al.: "Interleukin-1 β , but not Interleukin-1 α , is required for T cell-dependent antibody production"Immunology. 104. 402-409 (2001) ▼

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-13045014/>

Published: 2001-03-31 Modified: 2018-03-28