

# 遺伝子ノックアウトを用いたmiRNAの機能及び生成機構の解析

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-02-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Harada, Fumio メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00060441">https://doi.org/10.24517/00060441</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



[◀ Back to previous page](#)

# 遺伝子ノックアウトを用いたmiRNAの機能及び生成機構の解析

Research Project

<b>Project/Area Number</b>	15657039
<b>Research Category</b>	Grant-in-Aid for Exploratory Research
<b>Allocation Type</b>	Single-year Grants
<b>Research Field</b>	Molecular biology
<b>Research Institution</b>	Kanazawa University
<b>Principal Investigator</b>	<b>原田 文夫</b> 金沢大学, がん研究所, 教授 (40124424)
<b>Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)</b>	木戸 敬治 金沢大学, がん研究所, 助手 (60272986)
<b>Project Period (FY)</b>	<b>2003 – 2004</b>
<b>Project Status</b>	Completed (Fiscal Year 2004)
<b>Budget Amount *help</b>	<b>¥3,200,000 (Direct Cost: ¥3,200,000)</b> Fiscal Year 2004: ¥1,200,000 (Direct Cost: ¥1,200,000) Fiscal Year 2003: ¥2,000,000 (Direct Cost: ¥2,000,000)
<b>Keywords</b>	miRNA / DT40 / 遺伝子ノックアウト

## Research Abstract

昨年度までにトリリンパ細胞株DT40から得たmiR17-5P(miR91),miR17-3P(miR17),miR18,miR19a, miR20,miR19b, miR92の7種類のmiRNA遺伝子が密集して存在する遺伝子クローンについて、miRNA遺伝子群を含む1.9kbpをpuromycinおよびblasticidin S耐性遺伝子で置き換えたノックアウトコンストラクトを構築し、エレクトロポレーション法によってDT40細胞に順次導入し、それぞれの抗生剤の存在下培養することにより、これらのmiRNA遺伝子を完全に欠失した細胞株を得ることに成功した。変異遺伝子を導入した親株は野性株であることから、この遺伝子群は細胞の増殖には必須でないことが明らかになった。得られたノックアウト細胞株と親株(野性株)とを比較すると、形態的には殆ど変わることはなかった。一方、細胞の増殖速度はノックアウト細胞株で有意に遅くなっていた。各細胞株から全RNAを抽出し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動後、各miRNAに対するプローブを用いてノーザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、ノックアウト細胞株ではmiR17-3P及びmiR20の発現が完全に消失していた。しかし、他の5種類のmiRNAの発現は野性株と比較して減少しているものの、完全に消失するまでには至らなかった。これはそれぞれのmiRNAと類似した、あるいは完全に一致した塩基配列を持つmiRNA遺伝子が他に存在することによるものと考えられる。

本研究により、2種類のmiRNAの発現が完全に押さえられた細胞株が得られた。この細胞株および野性株で発現しているタンパク質を、二次元マッピングなどで比較することにより、これらのmiRNAのターゲットを特定することができるものと考えられる。

## Report (2 results)

2004 Annual Research Report

2003 Annual Research Report

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-15657039/>

Published: 2003-03-31 Modified: 2016-04-21