

## ルシフェラーゼアッセイを用いた HIKARU ラットの発光の確認と フェノタイプピング法の検討

○蟹江祐哉<sup>1</sup>、河合澄子<sup>1</sup>、攝田友香<sup>2</sup>、櫻 百合子<sup>2</sup>、小谷祐子<sup>1</sup>、河崎愛子<sup>1</sup>、愛原勝巳<sup>1</sup>、寺坂勝利<sup>2</sup>、尾崎公史<sup>2</sup>、鍵山壮一朗<sup>1</sup>、岡本 明<sup>1</sup>、高木康博<sup>1</sup>、田島 優<sup>1</sup>、平野俊一朗<sup>3</sup>、黒澤 努<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学、<sup>2</sup>三協ラボサービス株式会社、<sup>3</sup>独立行政法人産業技術総合研究所)

**【目的】**各種臓器の再生に関する報告がなされて久しいが、その具体的臨床応用例はまだない。我々は、臨床応用で要求される諸条件を満たした細胞の確立・移植細胞の非侵襲的動態の観察・細胞移植手技の至適条件の検討等を、実験動物を用いて行うため、バイオルミネッセンス動物の開発を試み、HIKARU (Wistar・*Tg(Per1-luc)10a*) ラットを生み出した。HIKARU ラットは、西洋ホタル由来のルシフェラーゼ遺伝子 (Luc) を導入した Tg ラットである。このラットの全身にルシフェラーゼが存在すると考えられる。今回、我々は HIKARU ラットが実際に発光能力を有するかどうかを、組織別にルシフェラーゼアッセイを行い確認した。また、HIKARU ラットのフェノタイプピング法を検討した。

**【材料と方法】**HIKARU ラットと Wistar ラットより主要臓器を含む各組織を取り出し、ルシフェラーゼアッセイシステム(Puromega; E 1500)を用いて、発光量を測定した。また、複数の HIKARU ラットから末梢血を採取して、ルシフェラーゼアッセイによる発光量を比較した。

**【結果】**Wistar ラットからの組織はいずれも発光が認められなかったが、HIKARU ラットから取り出した主要臓器は、ばらつきはあったものの顕著な発光が認められた。また、HIKARU ラットの末梢血でも、いずれも顕著な発光が認められた。

**【考察】**HIKARU ラットの摘出臓器で発光が確認され、Luc によりルシフェラーゼが全身に存在することが示された。またいずれの HIKARU ラットの末梢血も発光したことから、HIKARU ラットのフェノタイプピング法として、末梢血を用いる方法が確立できたと考える。

今後、我々は *in vivo* における発光測定法を確立し、最終的には移植細胞の動態を経時的に解析可能な新たな診断技術の開拓を目標としている。本研究は臓器機能再生という画期的治療法を開発するための基礎研究であり、医療の進歩への貢献は極めて大きいと考えている。