

HIKARU ラットの系統維持

ージェノタイピングとルシフェラーゼ遺伝子解析ー

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

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

【目的】我々は再生医療の基礎研究に用いる実験動物として、バイオルミネ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 ラットの系統維持に必要なジェノタイピング法の確立と、導入されている Luc を確認するための遺伝子解析を行った。

【材料と方法】HIKARU ラットは異なる3つの系統で維持しており、それぞれの系統のラットより組織を採取した。採取した組織より DNA を抽出し、Luc 特異プライマーF1 と R2 を用いて PCR を行った。次に Luc 特異プライマーF2, F3 と R3, R4 でも PCR を行い、得られた3つの産物のシーケンス結果 LucH を Luc (GenBank accession number : AB261988) と比較し、ルシフェラーゼ遺伝子の解析を行った。

【結果】Luc 特異プライマーF1 と R2 による PCR 産物は、HIKARU ラットの異なるいずれの系統からも検出できた。また、PCR により得られた3つの産物から解析された LucH を Luc と比較した結果、遺伝子レベルでもアミノ酸レベルでも数ヶ所の変異が認められた。

【考察】HIKARU ラットの系統維持に必要なジェノタイピングは、Luc 特異プライマーF1 と R2 を用いて確立できたものとする。また、LucH の遺伝子解析の結果、遺伝子の変異が確認されたが、別の実験でルシフェラーゼアッセイによる発光が確認されており、これらの変異のフェノタイプへの影響は極めて少ないと考える。しかし、今後の変異の可能性とそれによるフェノタイプへの影響が示唆されることから、定期的な遺伝子解析が必要であるとする。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。