

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）

分担研究報告書

遺伝子構築に関する研究

分担研究者 岡部 勝  
大阪大学遺伝情報実験センター 教授

研究要旨

昨年作った2種類のコンストラクト<CTDM> <HLA-E\*>を、通常のマイクロインジェクションによりそれぞれ150個の胚を移植した。生後8週令のマウスの各臓器での発現をRT-PCRで検討した。両方のpromoterで膵臓での発現を確かめたが、pCPI(insulin promoter)の方がbeta-actinより相対的に高発現と考えられた。

A. 研究目的

我々のグループは、既に糖転移酵素 GnT-III と CD55 のトランスジェニック (TG) ブタを作出している。今回は 23 年度に既出の遺伝子構築での TG ブタの重なる流産の原因を考えるため、マウスでの発現を検討した。

\*CTDM#2 : 心 (2.45) 肺 (7.29) 胸腺 (9.25) 肝 (0.03) 腎 (0.71) 脾 (14.25)、膵 (1)

\*HLA-E : 脳 (2.75) 心 (70.71) 肺 (15.48) 胸腺 (0.17) 肝 (0.36) 腎 (1.28) 腸 (0.30) 脾 (2.81)、筋 (12.86) 膵 (1) であった。<n=3>

B. 方法

1. 昨年度作出の遺伝子構築。

\* CTDM < 補体制御 + 抗凝固因子 >

pCPI(pig insulin promoter + CMV enhancer)/CTDM: C1-INH - Thrombomodulin - DAF - MCP <CTDM>

\* NK 細胞制御  
pCAGGS/HLA-Ev(147)-IRES-hβ2m < HLA-E\* >

両方の promoter で膵臓での発現を確かめたが、pCPI の方が相対的に高発現と考えられた。

D. 考察

HLA-E\*およびCTDM遺伝子を導入したブタの作出は、流産したため in vivo での発現に問題があると考えられたが、CTDM、HLA-E 遺伝子コンストラクト自体は、in vivo (マウス) 発現に問題は無いようであった。

2. Transgenic マウス作り

昨年作出した2種類のコンストラクト<CTDM> <HLA-E\*>を、通常のマイクロインジェクションにより BDF1xBDF1 にそれぞれ150個の胚を移植した。生後8週令のマウスの各臓器での発現をRT-PCRで検討した。

E. 結論

両方のコンストラクトとも、in vivo で胎仔を得ることが可能であると考えられた。

C. 結果

8週令マウスでの発現

pCPI/CTDMA および pCX/HLA-E をマウスに TG し、最終的にそれぞれ4匹、2匹の line を得た。内、2匹、1匹の発現を RT-PCR で解析した(膵臓での発現を1とした)。

F. 健康危険情報

特に無し。

G. 研究発表

特に無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

特に無し。

\*CTDM#1 : 脳 (5.41) 心 (0.19) 肺 (1.17) 胸腺 (0.30) 肝 (0.06) 腎 (0.13) 腸 (0.39) 脾 (1.61)、膵 (1) <n=2>