

3. 繁殖・生殖工学

データ閲覧・コメント入力可能期間：2021年3月28日0時～4月3日24時（予定）

[P3-29]ウシ CKT-1細胞における効率的な遺伝子導入条件の検討

○村田 康輔¹、岩崎 亜美¹、中務 胞³、川村 名子³、崎村 健司³、阿部 学³、山城 秀昭² (1.新潟大院自然科学、2.新潟大農、3.新潟大脳研)

[目的]我々は、ウシ遺伝子改変技術開発の一環として、未分化幹細胞の樹立を進めている。その過程で、ウシ由来細胞に薬剤選択を用いて遺伝子導入を行う必要がある。同一組織由来の細胞でも動物種により利用できる選択薬剤と効率よく外部遺伝子を発現できるプロモーターは異なっているので、ウシに適した選択薬剤とプロモーターの検討を株化細胞で行った。[方法]蛍光タンパク tdTomato遺伝子を CAG及び EF1プロモーターに継ぎ、その下流にそれぞれ pgkプロモーター制御下にネオマイシン (neo)とピューロマイシン(puro) 耐性遺伝子を発現するカセットを配置させた。ウシ腎臓由来細胞(CKT-1)を E-MEM、10% FBSで培養し、リポフェクション法を用いて環状及び直線化したベクターを導入した。薬剤選択は24時間後から neo(0, 0.5, 1 mg /ml)、Puro(0, 1, 2 mg /ml)でおこなった。[結果]一過性発現では、CAGプロモーターの方が導入初期から強い蛍光が認められ、EF1プロモーターより効率が良かった。一方、選択薬剤に関しては、CKT-1細胞は neo耐性が高く、1 mg/mlでも十分な選択ができなかった。Puroでは、1.0 mg /ml 48時間で完全に選択ができた。これらのことから、ウシCKT-1細胞では、CAGプロモーターを用いて Puroで選択する事が適していることが明らかになった。