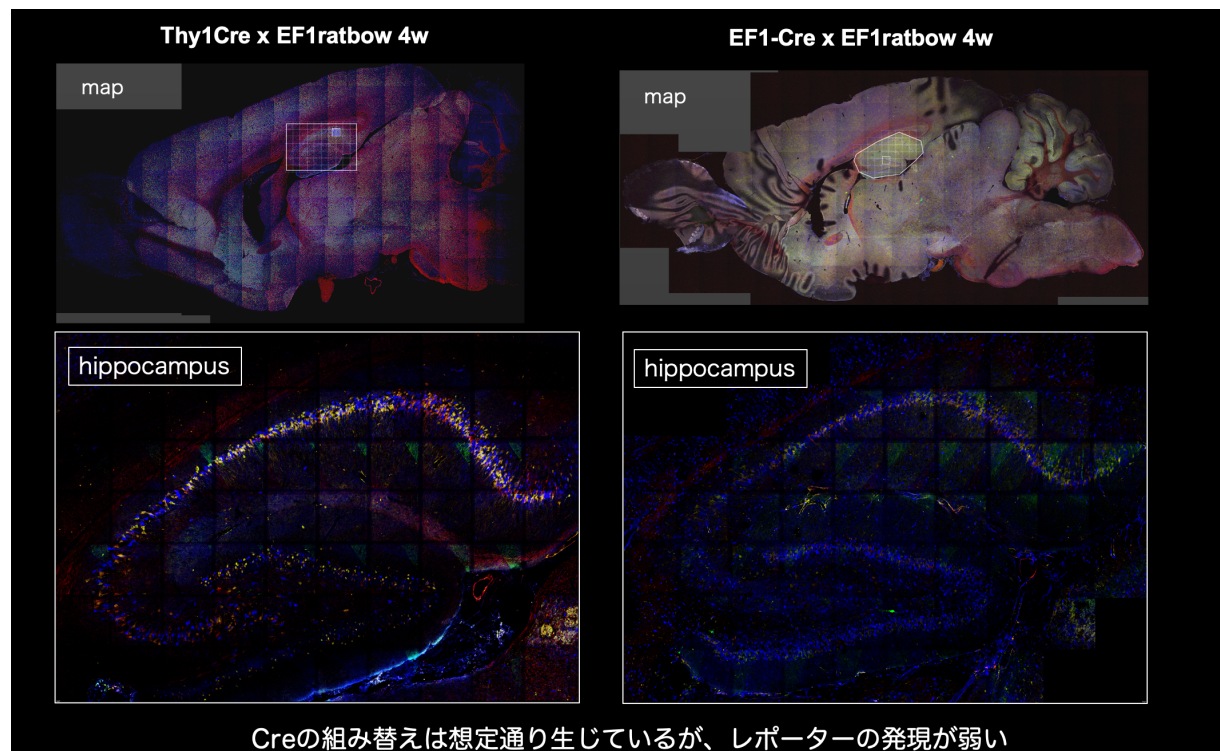


No.	22-1012	
研究課題名	新規ノックインラット「Ratbow」の樹立と応用	
研究代表者	隈元 拓馬（ 公益財団法人 東京都医学総合研究所・主席研究員 ）	
研究組織	受入教員	真下 知士（ 東京大学医科学研究所・教授 ）
	分担者	真下知士（ 先進動物ゲノム研究分野・教授 ）
	分担者	石田紗恵子（ 先進動物ゲノム研究分野・助教 ）
	分担者	服部晃佑（ 先進動物ゲノム研究分野・技術職員 ）

**東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書 (年次終了・研究完了)【国内】**

共同研究報告 (年次終了)

2021年度から細胞系譜をマルチカラーで標識するレポーターツール「brainbow」を用いて、そのノックインラット系統である「Ratbow」の樹立を目指して、本共同研究助成の支援をいただいている。長鎖のレポーターをSafe harbor locus内で安定的に発現させることから模索しながら始めた共同研究なので、試行錯誤をしながら進めてきた。昨年度までに2つのプロモーターを持つRatbowラインを樹立したので、2022年度においては、ドライバーであるCreラインの樹立を行った。その結果、Ratbow同様、Thy1プロモーター (神経細胞特異的) とEF1プロモーター (ユビキタス) を使った2つのCreラインを樹立するに至った。Creラインを樹立し、既存のレポーターライン(Rosa26-CAG-EGFP-mCherry)で確認後、前年度作製したRatbowと交配を行った。そして生まれた個体を4週齢まで成長させ、発現解析を行った。発現解析には、東京大学医科学研究所 病理コアラボを利用し、凍結切片を作成した後、免疫染色による発現解析を行った結果、各神経組織 (大脳皮質; Cortex、海馬; Hippocampus) でBFPの発現が確認された (図)。特に海馬での組み替えは高発現で確認できた。一方で大脳皮質や、EF1プロモーターRatbowでは、大脳以外の組織での発現量が非常に低かった。現状の発現量では必要十分な解析が困難なため、今後、生体レベルで遺伝子の発現が非常に高いCAGプロモーターを用いた、Ratbowラインの樹立を行う予定である。



ラットライン作製に並行して、プラスミドを胎児に導入するための、ラット子宮内電気穿孔法のセットアップを行った。ラット子宮内電気穿孔法に関しては、今後、医科研において石田助教が条件検討を行い、東京都医学総合研究所において、隈元が必要なプラスミドの作製を行う。プラスミド作成のための、遺伝子の選択と調達は2022年度内に行っている。