

ID No.	231
研究課題名	内在性遺伝子発現の制御を可能とする新規ノックインマウスによるポリコム遺伝子 Bmi1 の成体幹細胞の未分化状態維持機構の解明
研究代表者	森 泰昌 (国立がん研究センター・研究員)
研究組織 受入教員 研究分担者	吉田 進昭 (東京大学医科学研究所・教授)
研究報告書	
<p>これまでDe-stabilized Domain(DD)をノックインすることによりターゲット蛋白発現の可逆的コントロール可能な新たなマウスの作成を目指し、コンストラクトベクターの作成を行った。まず、これらのコンストラクトが実際に働くことを評価、確認するコントロールとしてGFP-DD融合蛋白とCreERT2コンストラクトを結合させた発現ベクター(pGFP-DD-IRES-CreERT2)を作成・細胞に導入し、<i>in vitro</i>での評価を行った。その結果、DDのリガンドであるTrimetoprim(TMP)を投与することにより、GFP蛋白がプロテオソームによる分解を回避し、TMP濃度依存的・可逆的に蛋白発現をコントロールできることを確認した。さらにこれらの細胞では、同時にCreERT2蛋白が発現することを確認した。マウス作成ベクターは、Bmi1未分化維持機構を獲得するための重要なターゲットと考えられるYBX1分子の Cordin g sequence3'末端領域にDD-IRES-CreERT2をノックインするベクターを作成した。このベクターを医科学研究所吉田研究室において、C57BL/6系統ES細胞に相同組換えとスクリーニングを行い目的のゲノム領域に導入されているクローンを樹立した。このES細胞クローンからキメラマウスの産出を得た。さらに交配を進めジャームライントランスミッションが確認された。現在このマウスの系統の維持を行い、解析を進める準備を行っている。</p>	