

新規遺伝子導入細胞セレクションシステムの開発

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 溝越, 祐志, 鈴木, 高史, 伊吹, 謙太郎 メールアドレス: 所属:
URL	https://kobe-tokiwa.repo.nii.ac.jp/records/1070

3-P-2

新規遺伝子導入細胞セレクションシステムの開発

溝越祐志¹⁾鈴木高史¹⁾ 伊吹謙太郎²⁾

【はじめに】遺伝子導入実験において、プラスミド導入細胞の選択・分離には、薬剤耐性遺伝子または蛍光タンパク遺伝子をプラスミドに組み込む方法が一般的に利用されている。しかし、これらの方法は日数を要することや、セルソーター等の高価な機器が必要であるといった問題点がある。本研究ではこれらの問題を改善するため、既存とは異なる、磁性ビーズにより細胞を分離する方法を開発し、分離効率に関する検討を行った。

【方法】膜移行シグナルと GPI アンカー付加配列を挿入した Fc フラグメント発現遺伝子および Green Fluorescent Protein (GFP) をポリシストロニックに発現させるプラスミドを構築した。このプラスミドを HEK293T 細胞に導入し、細胞表面への Fc フラグメント発現、およびプロテイン G 感作磁性ビーズによる分離効率をフローサイトメトリーにより解析した。

【結果・考察】構築したプラスミドを細胞にトランスフェクションすることで、Fc フラグメント陽性細胞が検出された。また、分離前と比較して、分離後分画に含まれる GFP 遺伝子導入細胞の割合が増加していた。以上の結果より、Fc フラグメントは発現後、細胞膜に移行し、GPI を介して細胞膜上に発現していることが推測された。また、プロテイン G 感作ビーズを用いることで、細胞膜上の Fc フラグメントタンパクを介して、遺伝子導入細胞を濃縮することが可能であることが示された。

1) 保健科学部医療検査学科

2) 京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻検査技術科学コース