

# 遺伝子トラップ法を用いた軟骨マトリックス研究の試行錯誤

篠村 多摩之

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

軟骨組織は、細胞外基質を豊富に含んだ組織であり、その主成分はアグリカンとⅡ型コラーゲンである。このことは周知の事実であるが、これら 2 成分の発現レベルがどのようにコントロールされているか、必ずしも把握しきれていないのが現状である。そこで我々はⅡ型コラーゲン遺伝子の再構成を通して、改めて上記問題について検討を加えようと考えている。

これまで我々は、遺伝子トラップ法を利用して、培養細胞系における「遺伝子の安定発現システム (図 1)」を構築してきた。軟骨の研究に対しては、主にラット軟骨肉腫細胞を用いてシステムを構築し、解析を行っている。本システムの特徴は、発現対象とするどのような遺伝子に対しても、常に同じ染色体の同じ位置に 1 コピーの DNA を挿入して、その発現を比較解析することができる点である。言い換えると、導入された遺伝子のコピー数や染色体の位置効果に由来する発現の多様性や不明確さを排除することができるということである。既に幾つかの遺伝子を用いて、それぞれの発現レベルが cDNA の種類やサイズに依らずほぼ一定であることを確認した。

そこで我々は次に、上述した「染色体の同じ位置に 1 コピーの DNA を挿入することが可能である」という特徴を生かし、染色体上に新たな遺伝子を再構築する系を作成している。具体的には、ラット軟骨肉腫細胞においてⅡ型コラーゲン遺伝子 (約 70 Kb) を再構成することであり、その過程でⅡ型コラーゲンの発現レベルを制御するシスエレメントの同定が可能ではないかと考えて研究を進めている。

図 1： 遺伝子発現システムの概要

