

平成 29 年 3 月 30 日

I. 申請項目

共同利用 A-4. ゲノム編集マウス作製(担当:竹本龍也)

II. 研究題目

腎臓特異的 ATF6 α のコンディショナルノックアウトマウスの作製とその解析

III. 申請者

1. 氏名 稲城 玲子
2. 所属 東京大学 大学院医学系研究科 慢性腎臓病(CKD)病態生理学
3. 職位 講座主任(特任准教授)
- 4.

IV. 共同研究希望分野

B-8. 生体機能学分野(担当:親泊政一 oyadomar@genome.tokushima-u.ac.jp)

V. 申請内容

目的

腎臓細胞の UPR 経路と糖・脂質代謝の関連性の解明に焦点を絞り、UPR 分子の中でも特に代謝経路との関連性が示唆される ATF6 α のノックアウトマウスを用いた in vivo 解析のための研究基盤整備を行う。それらに基づいて、ATF6 の腎臓細胞機能における病態生理学的役割を分子レベルで解明することを目指す。

方法

本申請では、腎臓細胞特異的 ATF6 α ノックアウトマウス作出のために、ATF6 α flox/flox マウスの作製を行う。次にそれらマウスを申請者が系統維持する腎臓特異的 Cre マウス(尿細管特異的 Cre マウス、糸球体ポドサイト特異的 Cre マウス)と交配して、腎臓細胞特異的 ATF6 α ノックアウトマウスを作出する。

成果

1) ATF6 α flox/flox マウスの作製のための遺伝子改変の戦略を図の様に設計した。(図1参照)

2) 上記の戦略に従って遺伝子改変を行い、現在までに flox 挿入 ATF6a を発現する候補マウス 8 匹を得ることが出来、そのうち loxP が入っていたのは#5M4 と#9-7 の 2 系統であることを、Direct sequence 法と Cloning sequence 法にて確認することができた。

現在、もう一つの loxp を挿入すべく、交配を開始している。

図1.

ATF6α floxed allele

現行のATF6αKOマウスに準じた作製法で、exon 8及びexon 9をloxPで挟むストラテジーを選択。具体的には、Cre発現により、exon 8, 9が欠失、10以降にコードされる配列にフレームシフトが起こるという方法でノックアウト作出を実施する

NM_001081304.1, mRNA

exon 1	:	21217	...	21338
exon 2	:	33799	...	33875
exon 3	:	35996	...	36083
exon 4	:	39771	...	39871
exon 5	:	47176	...	47302
exon 6	:	48104	...	48307
exon 7	:	53948	...	54168
exon 8	:	69556	...	69741
exon 9	:	73474	...	73565
exon 10	:	89243	...	89374
exon 11	:	94218	...	94331
exon 12	:	94932	...	95031
exon 13	:	100313	...	100380
exon 14	:	101528	...	101642
exon 15	:	141798	...	141882
exon 16	:	178901	...	184531

ATF6α conventional total KO strategy

