

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		水性型脊椎から陸棲型脊椎へ: 異種間ゲノム工学による内軟骨性骨化の獲得機構の研究			
研究テーマ (欧文) AZ		A cross-species genome engineering approach to uncover molecular mechanisms of endochondral bone formation			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	シュクナミ	チサ	研究期間 B	2011 ~ 2013年
	漢字 CB	宿南	知佐	報告年度 YR	2013年
	ローマ字 CZ	Shukunami	Chisa	研究機関名	京都大学再生医科学研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		京都大学再生医科学研究所・准教授			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>陸棲型硬節エンハンサー <i>Xe1</i> と水棲型硬節エンハンサー <i>Pf1</i> 内のコアエレメントを同定するために、Tol2 トランスポゾンを用いて、候補領域のエンハンサー活性をゼブラフィッシュ胚で解析した。1.7 kb の <i>Xe1</i> を3つに分割した断片と 0.8 kb の mouse <i>Pf1</i> (<i>mPf1</i>) は、ゼブラフィッシュ胚ではエンハンサー活性を示さなかったが、1.2 kb の zebrafish <i>Pf1</i> (<i>zPf1</i>) では、<i>mPf1</i> との相同性の高い約 0.7 kb の領域にエンハンサー活性が検出された。また、トランスジェニックマウス胚にて X-gal 染色を行うと、硬節領域で <i>zPf1</i> の特異的なエンハンサー活性が検出された。同様にして解析した <i>mPf1</i> よりも強いエンハンサー活性を検出したので、<i>zPf1Cre</i> Tg マウスを作成し、発生過程において <i>Pax1</i> 陽性細胞群を明らかにする解析を進めている。マウス前駆軟骨細胞株 ATDC5 やヒト胎児腎細胞株 HEK293T を用いた Dual luciferase assay では、<i>zPf1</i> は <i>Gli1</i> によって、<i>Xe1</i> は <i>Pax1</i> によって、luciferase の活性が上昇することが明らかになっている。また、mouse <i>Pax1</i> (<i>mPax1</i>) をゼブラフィッシュ胚で過剰発現させると、軟骨形成が遅延したので、当初の計画には含まれていなかったが、ニワトリ胚とニワトリ軟骨細胞を用いた <i>mPax1</i> の機能解析を行った。その結果、<i>Pax1</i> は軟骨細胞の分化成熟を抑制する活性を有することが明らかになり、結果を論文として公表した。</p>					
キーワード FA	内軟骨性骨化	脊椎	<i>Pax1</i>	ゲノム工学	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Pax1 acts as a negative regulator of chondrocyte maturation							
	著者名 ^{GA}	Takimoto et al.	雑誌名 ^{GC}	Experimental Cell Research					
	ページ ^{GF}	<i>in press</i>	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

To reveal the regulatory mechanisms underlying sclerotome-specific expression of *Pax1* *in vivo*, we have attempted to identify the *cis*-regulatory elements within *Xe1* and *Pf1* enhancers using Tol2 transposon-mediated transgenesis in zebrafish. Sclerotome-specific enhancer activity was detected in zebrafish *Pf1* (*zPf1*) containing the ~0.7 kb homologous region with mouse *Pf1* (*mPf1*), but not in *mPf1* itself and partial fragments of mouse *Xe1*. Analysis of *LacZ* reporter expression in transgenic (Tg) mice revealed that *zPf1* has considerably stronger sclerotome-specific enhancer activity than *mPf1*. We are currently conducting fate mapping of *Pax1* positive cells in *zPf1Cre* Tg mice during development. Taking advantage of dual luciferase assays in chondrogenic cell line ATDC5 and human embryonic kidney cell line HEK293T, we also found that Gli1 and Pax1 transactivate *zPf1* and *mXe1*, respectively. Forced expression of mouse *Pax1* in zebrafish inhibited cartilage formation. We have further analyzed functional roles of *Pax1* in chick embryos and cultured chondrocytes. We have reported that Pax1 acts as a negative regulator of chondrocyte maturation.