

学内グラント 報告書

平成25年度 学内グラント終了後報告書

丸木記念特別賞受賞

生体ネットワークの調和を目指す再生医療に向けた
神経および骨再生を担う分子の探索

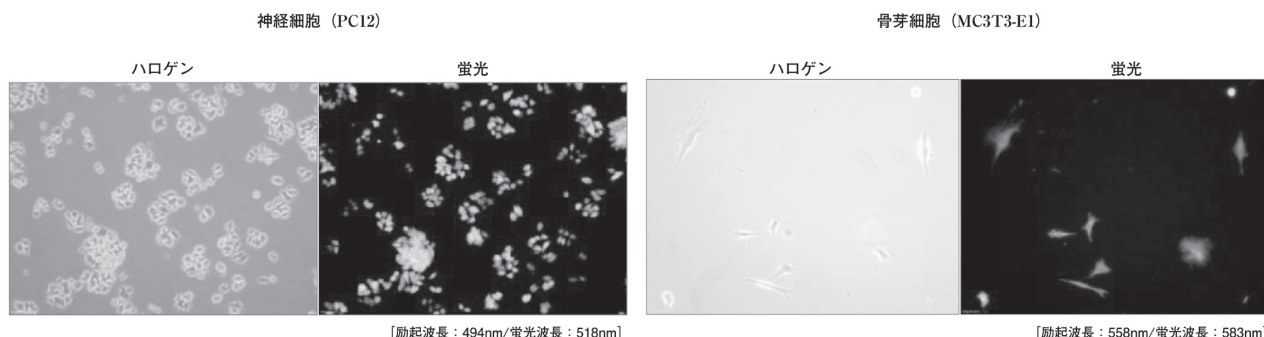
研究代表者 佐藤 毅 (大学病院 歯科・口腔外科)

研究分担者 松本 征仁¹⁾, 榎木 祐一郎²⁾, 千田 大³⁾

本研究の終了時以降、神経細胞PC12はラット由来、骨芽細胞MC3T3-E1はマウス由来であるため、発現を確認した遺伝子が交叉反応を起こしている可能性を考慮し、神経細胞と骨芽細胞を接触型共存培養後に分離する必要があるため、レトロウイルスベクターを用いて神経細胞にVenus遺伝子を、骨芽細胞にDSRed遺伝子を導入した。Venus, DSRed遺伝子のcDNAが組み込まれているpMXsレトロウイルスベクターを、大腸菌(DH5α株)で増やした。大腸菌から精製したプラスミドはパッケージセルラインのplat E細胞にリン酸カルシウム法にて遺伝子導入

し、48時間培養後にウイルス上清を採取後0.45 μmのシリジフィルターで濾過し、DMEM培地と交換し、pMX-VenusをPC12(PC12/Venus)と、pMX-DSRedをMC3T3-E1(MC3T3-E1/DSRed)とに、それぞれ12時間培養して感染により遺伝子導入した。

今後はPC12/VenusとMC3T3-E1/DSRedを接触型共存培養後FACSにて分離・回収し、各々の細胞についてDNAアレイおよびリアルタイムPCRによる遺伝子発現を検討する予定である。



- 1) ゲノム医学研究センター ゲノム科学部門
2) 国際医療センター 頭頸部腫瘍科
3) 大学病院 歯科・口腔外科