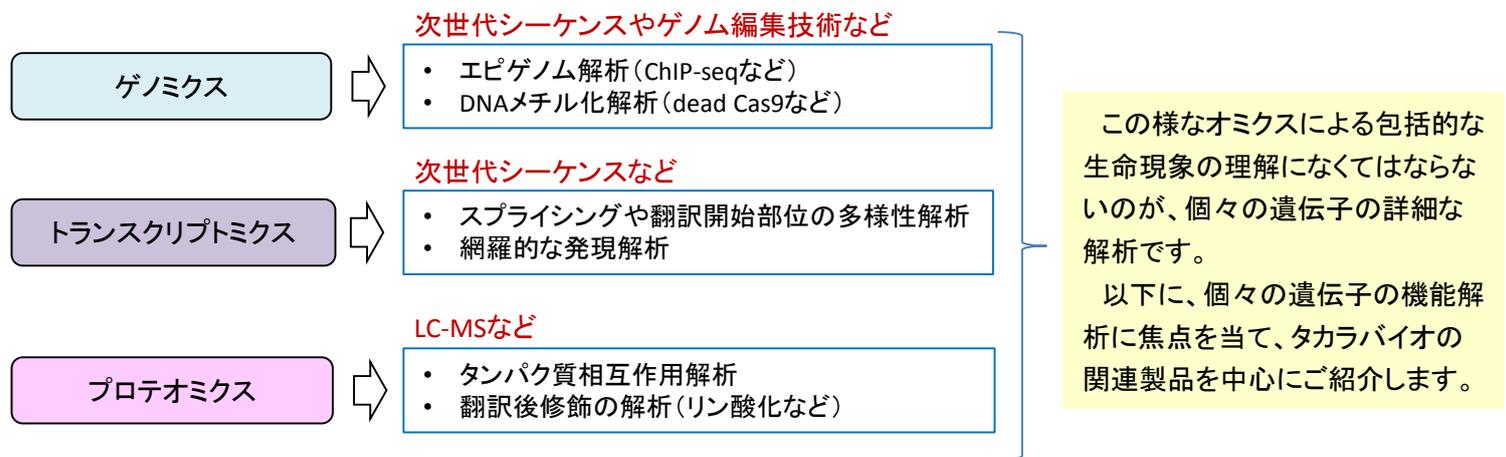


はじめに：次世代シーケンスで得られた網羅的な発現解析データから、特定の遺伝子に絞った機能解析を行う場合、その遺伝子を特異的に制御するシステムを用いることで、機能解析や関連遺伝子との相互作用などを調べることが可能となります。

今回の「クロンテック通信」は、遺伝子の機能解析に関する最近のトレンドおよび転写発現制御でよく利用される『Tet発現システム』の最近の文献情報をご紹介します。

網羅的な発現解析

近年の技術の進歩は著しく、特に、次世代シーケンスや質量分析装置(LC-MS)等によるオミクス分野への貢献は絶大です。“ゲノミクス”は、ゲノムを対象とした研究分野であり、“トランスクリプトミクス”は、mRNAやノンコーディングRNAなどの構造と機能を研究する分野です。また、“プロテオミクス”は、タンパク質の構造や機能を質量分析技術により大規模に研究する分野です。このような細胞内分子の網羅的データの蓄積が生命現象の包括的な理解につながると期待されています。



タカラバイオの発現制御システム

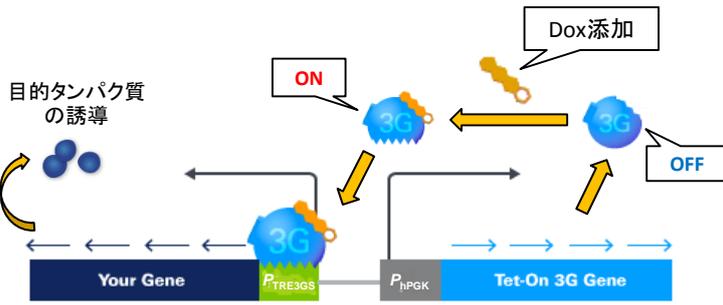


裏面：Tet発現システムの紹介

Tet-Oneシステム概要

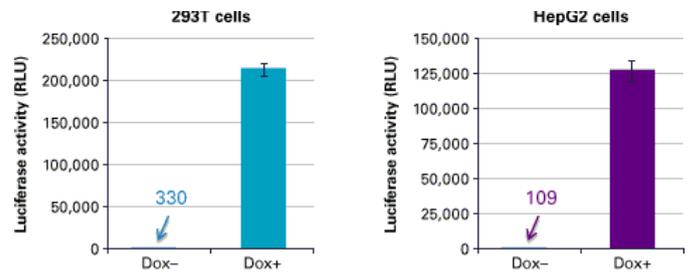
『Tet-Oneシステム』は、Tetシステムに必要なTet-On 3Gトランスアクチベーターとテトラサイクリン応答因子配列 (PTRE3GS) を同一ベクターに搭載したAll-in-Oneベクターであり、1回の形質転換で目的の遺伝子発現制御株を構築可能なシステムです。

Tet-One Systemの誘導発現原理



Tet-On 3Gトランスアクチベーターはドキシサイクリン (Dox) 存在下でのみ TRE 3Gプロモーター (PTRE3GS) に結合し、転写活性を可逆的に誘導する。

RetroX-TetOne-Luc retrovirusを用いた発現誘導



RetroX-TetOne-Luc感染細胞をDox処理(±)し、48時間後のルシフェラーゼアッセイ活性を測定した。RLU=relative light units

Tet-Oneシステム使用文献

『Tet-One発現システム』は、一過性発現、安定発現、*in vivo*発現など、様々な実験用途に応じた構築が可能なシステムです。

○ Tet-One発現システムの安定発現株の構築:

MIST1もしくはPTF1a遺伝子のTet-One発現誘導システムを膵管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 細胞株に導入し安定発現システムを構築。

Induced PTF1a expression in pancreatic ductal adenocarcinoma cells activates acinar gene networks, reduces tumorigenic properties, and sensitizes cells to gemcitabine treatment. Jakubison, BL. *et al.*, *Mol Oncol.* 2018. **12**:1104-1124.

Tet-One発現システム (MIST1及びPTF1a)



○ 一過性に発現するTet-One発現システムの構築:

間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells, MSCs) にトランスフェクションでpTetOne-MDA-7プラスミドを導入し、Dox依存的なMDA-7 (がん抑制遺伝子) の分泌発現を確認。

Controlled Secretion of the Anticancer Protein MDA-7 from Engineered Mesenchymal Stem Cells. Sagara, A. *et al.*, *Biol Pharm Bull.* 2017. **40**:113-117.

○ レンチウイルスベクターによるTet-One発現システム導入細胞の構築:

ヒトING3遺伝子 (OncoproteinであるING3をコードする遺伝子) と3XxFLAG tagをpLVX Lenti-X Tet-One inducible expression systemに挿入し、*ex vivo*で前立腺肥大症の患者由来の細胞などに導入。

Human *ex vivo* prostate tissue model system identifies ING3 as an oncoprotein. McClurg, UL. *et al.*, *Br J Cancer.* 2018. **118**:713-726.

○ Tet-One発現システム導入細胞を移植したマウスの構築:

標的遺伝子のTet-One発現システムを導入した繊維芽細胞をマウスに移植し、*in vivo*での誘導実験を行った。

Transcriptome network analysis identifies protective role of the LXR/SREBP-1c axis in murine pulmonary fibrosis. Shichino, S. *et al.*, *JCI Insight.* 2019. **4**: pii 122163.

Tet-One発現システム (trSrebf1c)

