

先端研究基盤共用促進事業（先端研究設備プラットフォームプログラム）

顕微イメージングソリューションプラットフォーム

利用報告書

報告日 2022/3/8

北海道大学創成研究機構長 殿

下記の通り利用結果を報告します。

●利用課題名

軸索誘導因子を標的とする細胞内シグナル制御法の確立

●申請者情報

機関名： 広島国際大学

部署名： 保健医療学部

代表者： 中山 寛尚 講師

●利用期間

2021年9月1日～2022年3月31日

●利用装置

セルソーター（広島大学）委託分析

●利用分野

ライフサイエンス

●利用目的

軸索誘導因子は、発生期における神経細胞の軸索伸長・反発因子として同定されたが、血管内皮細胞、免疫細胞、腫瘍細胞など多岐にわたる細胞にも作用して、様々な生理機能、病態形成に関わっている。これまでに申請者は、軸索誘導因子が腫瘍の増殖、転移、血管新生、免疫応答を制御する“がん微小環境制御因子”であることを報告してきた。本研究では軸索誘導因子を標的とする新規抗腫瘍薬開発に向けた基礎検討を行うため、軸索誘導因子リガンドまたはレセプターをノックアウトした細胞を作成し、細胞内シグナルに与える影響を評価したい。

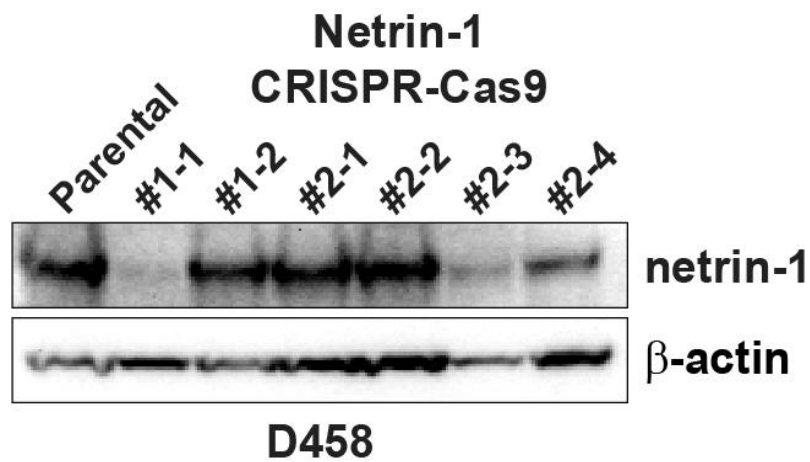
●利用結果

1、Netrin-1 リガンドのノックアウト

まず、髄芽腫細胞 D458 に Netrin-1 を標的とする CRISPR vector を遺伝子導入した。48 時間後に細胞をセルソーターにて分画し、GFP 陽性集団を単離して 96well plate に播種した。単離したクローンを 6 個程度得ることに成功し、ウエスタンブロットにて Netrin-1 タンパク質発現を検討したところ、1 個のクローンにおいて Netrin-1 がノックアウトされていることを確認した。

本検討では、単離培養から得られるクローンが少なかったため解析が十分ではないと考えられる

ので、再度検討を行う予定である。また別の髄芽腫細胞株でも同様に netrin-1 ノックアウト細胞を作成する予定である。さらに作成した netrin-1 ノックアウト細胞株を用いて、細胞増殖、浸潤能、細胞内増殖シグナル解析などを親株細胞と比較検討を行う予定である。



●**成果公開について**

本利用報告書を 2024 年 3 月に公開する

-
- 受付番号： C21P0001-C (広島大)
 - 受理日： 2022 年 3 月 9 日
 - 受付担当者： 阿部