

P136 アフリカツメガエル胚前方神経外胚葉特異的に発現する新規遺伝子の網羅的検索

高橋範行<sup>1</sup>、栃本直子<sup>1</sup>、大森慎也<sup>1,2</sup>、伊藤万里<sup>2</sup>、稲森雅子<sup>1,2</sup>、信賀順<sup>1,2</sup>、長田真一<sup>2</sup>、平良眞規<sup>1,2</sup>

(1 東大・院理・生物科学、2CREST・JST)

前部神経外胚葉領域特異的に発現する新規の発生制御遺伝子を網羅的検索により単離し、その機能を追究することにより、頭部形成のメカニズムの解明を目指している。アフリカツメガエルの原腸胚 (st.12-12.5) 600 個より前部神経板領域を切り出し cDNA ライブラリーを作成した。そのライブラリーに対し、尾芽胚胴部の RNA から作成したプローブでブランク・ハイブリダイゼーションを行い、高発現の遺伝子を除去した後、ファージクローンを無作為に単離した。これらのクローンを、塩基配列決定法 (1,824 clones) あるいは全胚 *in situ* ハイブリダイゼーション法 (433 clones) により新規遺伝子の検索を行った。その結果、前部神経板において比較的一様に発現する N3A9, N24E4、領域特異的に発現する N3B10, N17A7, N17D12 などの遺伝子を得た。今回は現在までに得られたこれらの遺伝子の知見と、網羅的検索の進行状況ならびに統計的データを報告する。

P137 TG マウス胚におけるインシュレーター機能

高田達之<sup>1,2</sup>、飯田桂子<sup>2</sup>、赤坂甲治<sup>3</sup>、安江博<sup>4</sup>、鳥居隆三<sup>5</sup>、辻本豪三<sup>6</sup>、平良眞規<sup>2,7</sup>、木村博<sup>1,2</sup>

(1 滋賀医大・放射線基礎、2CREST・JST、3 広島大・理・遺伝子、4 畜産試験場、5 滋賀医大・動物実験施設、6 国立小児医療研究センター・薬理、7 東大・院理・生物科学)

トランスジェニック (TG) マウスを用いた領域特異的遺伝子の発現解析においてポジションエフェクトが問題となり、発現が一様ではない場合がある。そこでクロマチン境界を形成するとされる、ウニ由来のインシュレーターを利用して、領域特異的な発現を行うシスエレメントの機能をできるだけ正確に TG マウスにおいて再現できるかを調べた。その結果マウスの胚盤胞においては、ポジションエフェクトを解消し、導入遺伝子の正確な発現が行えるという結果を得たが、胎中期においては胚盤胞期において観察されたようなインシュレーターの顕著な効果は認められなかった。すなわち今回使用したインシュレーターは発生に伴いその機能が変化する可能性が示唆された。

P141 SDS-FRL による小脳神経細胞膜上機能分子の発現解析

馬杉美和子<sup>1,3</sup>、藤本 和<sup>2,3</sup>、渡辺雅彦<sup>4</sup>、重本隆一<sup>1,3</sup> (1 生理研、2 福井県立、3 CREST・JST、4 北海道大)

従来、電子顕微鏡による細胞膜上分子の局在の解析には、金標識を用いた preembedding 法あるいは postembedding 法が解像度が高い方法として用いられてきた。しかしこれらには定量性や、使用できる抗体の質などの問題があり、また位置関係を解析するためには連続超薄切片で再構築する必要がある。そこで、本研究では SDS-Freeze Fracture Replica Labeling (SDS-FRL) 法を活用した。Freeze Fracture 法は、膜の構造の観察に適するが、分子の同定は困難である。しかし、Replica を金でラベルすることによって膜上分子の分布を一気に 2 次元的に観察することが可能となった。我々は、加圧凍結装置を用いて凍結したラット小脳のレプリカを作製し、種々の膜上分子の SDS-FRL を施行した。