

研究テーマ (和文) AB	小胞体機能制御による難治性神経変性疾患の克服に向けた新規治療基盤の構築				
研究テーマ (欧文) AZ	Establishment of novel therapeutic system for neurodegenerative diseases through regulation of endoplasmic reticulum function				
研究氏 代表名 者	カナ CC	姓) タカイ	名) トモコ	研究期間 B	2014 ~ 2015 年
	漢字 CB	高井	知子	報告年度 YR	2015 年
	ローマ字 CZ	Takai	Tomoko	研究機関名	広島大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	広島大学大学院医歯薬保健学研究院 分子細胞情報学・助教				
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>我々は、小胞体ストレス応答シグナルに関わる複数の新規小胞体ストレスセンサー分子を同定し、生体内における機能を明らかにしてきた。本研究では、グリア細胞(アストロサイト)に優先的に発現する小胞体ストレスセンサーOASISの神経疾患との関連性を明らかにするために、アストロサイト特異的に OASIS の発現を欠損させたコンディショナルノックアウト(cK0)マウスの作製を試みた。</p> <p>1) OASIS cK0 マウスの作製</p> <p>OASIS 遺伝子ゲノムの Exon2 を loxP 配列で挟むターゲティングベクターを構築した。このターゲティングベクターを導入した組み換え ES 細胞株を樹立し、キメラマウス作製およびヘテロマウス作製を行った(OASIS flox マウス)。</p> <p>一方、アストロサイト特異的骨格タンパク質である GFAP をコードする遺伝子のプロモーター下流に Cre リコンビナーゼ遺伝子を挿入した GFAP Cre マウスを OASIS flox マウスと交配させることにより、OASIS cK0 マウスを作製した。</p> <p>このマウスは、肉眼的異常は無く正常に出生・発育するが、現在、生化学的・組織学的・行動学的解析により表現型の詳細を解析中である。</p> <p>2) OASIS flox マウス由来不死化アストロサイトの樹立</p> <p>アストロサイトにおける OASIS 機能の詳細を調べることが可能な <i>in vitro</i> 解析系を構築するため、OASIS flox マウスよりアストロサイトを初代培養し、SV40 発現により不死化細胞株を樹立した。この不死化細胞に、Cre リコンビナーゼをレトロウイルスで発現させると、OASIS の発現が顕著に低下することが確認できた。現在、樹立した細胞を用いて、ストレス感受性や細胞死などに関して解析中である。</p>					
キーワード FA	神経疾患	小胞体ストレス	アストロサイト	OASIS	

(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}	Promotion of Cancer Cell Proliferation by Cleaved and Secreted Luminal Domains of ER Stress Transducer BBF2H7							
	著者名 ^{GA}	Iwamoto and Takai <i>et al</i>	雑誌名 ^{GC}	PloS ONE					
	ページ ^{GF}	1 ~ 17	発行年 ^{GE}	2	0	1	5	巻号 ^{GD}	10:e0125982
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

Recently, we identified novel endoplasmic reticulum (ER) stress transducers involved in the ER stress response, including OASIS that is dominantly expressed in astrocyte. In this study, we tried to establish astrocyte-specific OASIS conditional knockout (cKO) mice in order to reveal roles of OASIS in neurodegenerative diseases.

- (1) We designed and constructed a targeting vector for removing exon2 in OASIS gene through Cre/loxP recombination. We established homologous recombinant ES cells, and produced chimeric mice and heterozygous mice (OASIS flox mice). Then, we produced OASIS cKO mice by mating OASIS flox mice with GFAP Cre mice that have Cre recombinase gene in downstream region of the promoter of GFAP gene. GFAP is a astrocyte-specific cytoskeletal protein. OASIS cKO mice are born and grow normally. We have performed biochemical, histological and behavioral analysis for determine detail phenotype of OASIS cKO mice.
- (2) In order to analysis functions of OASIS in astrocytes *in vitro*, we established astrocyte cell line from OASIS flox mice. We cultured primary brain astrocytes of OASIS flox mice and immortalized them with the SV40 large T antigen. In this cell line, the expression of OASIS was remarkably decreased by expression of Cre recombinase. We have analyzed about susceptibility to stress and cell death in OASIS knockout astrocytes *in vitro*.