

卒業論文要旨

ウェスタン法を用いたゼブラフィッシュ *pax6a* ゲノム編集アレルの解析

1250186 安藤 萌依

Analysis of genome-edited zebrafish *pax6a* alleles Western blotting

Moe Ando

*Pax6*は、眼の発生のマスターコントロール遺伝子として見いだされた転写因子をコードする遺伝子である。ヒトでは、*PAX6*の変異は無効彩症やピータース症などの様々な眼の疾患の原因となる。さらに、*Pax6*は中枢神経系、腭臓、腸、鼻においても発現される遺伝子であり、胚発生において多様な機能を持つことも知られている。ゼブラフィッシュは、*Pax6* オーソログとして、*pax6a* と *pax6b* を持つが、これらの分子機能には未解明の部分が残されている。そこで当研究室では、*Pax6a* にタグを付加するためのノックインアレル、および機能喪失を目指した欠失アレルを作成した。本研究では、これらのアレルからの *Pax6a* の発現を調べるために、抗 *Pax6* 抗体を用いたウェスタン法の至適化を行った。まず、野生型、ノックインアレルおよび欠失アレルをホモ接合型にもつ受精後 1 日目および 2 日目の胚を用いて、SDS-PAGE のためのタンパク質サンプルを調製した。この際、卵黄を含むサンプルと卵黄を除いたサンプルを調製した。これらのサンプルを用いてウェスタン法を行ったところ、発現量は 1 日目よりも 2 日目のほうが多く、また卵黄を除いたサンプルの方で明瞭なバンドを検出することができた。さらに卵黄を除いた 2 日目胚のサンプルを用いて抗体、フィルター、ブロッキング剤などの条件を変え更にウェスタン法を行い、より明瞭に *Pax6a* と *Pax6b* のバンドが検出することが出来る条件を見いだした。さらに、ノックダウン法により、これらのバンドが *Pax6a* と *Pax6b* であることを現在検証している。