

卒業論文要旨

母性遺伝子の機能解析へ向けたエピトープタグ付加の評価

山本 桜雅

Evaluation of epitope tagging approaches for maternal gene analysis

Ouga Yamamoto

受精後の胚は母性の mRNA が減少し、胚性のゲノムから転写された mRNA が増加する胚性ゲノム活性化がおこる。ゼブラフィッシュでは、この中期胞胚遷移までは Sox19b と Pou5f3 (Pou2) などの母性因子の働きにより発生が進行するが、どのように胚性ゲノム活性化に関わるのかに関しては未解明な点が残されている。これらの遺伝子の働きを解明するためには、そのタンパクに対する特異的な抗体を用いることが有効であるが、様々な解析に幅広く適用できる抗体は見つかっていない。そのため、本研究では、Sox19b と Pou5f3 にエピトープタグを含む複合タグを付加し、エピトープタグの付加がタンパク質の発現や機能へ与える影響を比較することを目的とした。Sox19b には 7 種、Pou5f3 には 4 種のエピトープタグを付加するとともに、両者に共通して HiBiT と Bio タグを付加し、これらのタグ付きタンパク質をコードする mRNA を作成した。mRNA を顕微注入したゼブラフィッシュ胚よりタンパク質を調製し、これらの発現をウェスタンブロッティングで調べた。まず、HiBiT と Bio タグに対する抗体で検出したところ、タグが付加された Sox19b と Pou5f3 タンパク質の発現が確認できた。Sox19b タンパク質の発現量はエピトープタグにより異なっていたが、Pou5f3 のタンパク質の発現量はどのエピトープタグでも差はあまりなかった。今後はそれぞれのエピトープタグ抗体でも検出を行い、タグの総合的な評価を行っていく予定である。