

課題C「独創性の高いモデル動物の開発」

先端的遺伝子導入・改変技術による脳科学研究のための独創的霊長類モデルの開発と応用

1) 研究課題名

「コモンマーマーモセットの遺伝子改変技術の基盤整備 (ES/体細胞クローン技術の応用)」

2. 研究機関名 / 研究代表者名

広島大学自然科学研究支援開発センター 外丸 祐介

3. 目的

我々の研究目的は、マーマーモセットにクローン技術を応用することで遺伝子組換えマーマーモセット作製方法を確立し、精神・神経疾患研究や脳機能研究に有用な遺伝子改変モデル動物の作出を目指すものである。マーマーモセットはマウスやラットに比べてよりヒトに近縁であり、極めて有用なヒト病態モデル実験動物である。さらに遺伝子組換え個体を実験に用いることができれば更にその有用性は格段に高まるが、現状では作製は非常に困難である。トランスジェニック (Tg) 個体は、マウスでは受精卵前核への DNA 注入により作製されるがその効率は 1% 程度であり、卵子の確保・移植が容易でないマーマーモセットでは現状では現実的な手段ではない。また、ノックアウト/ノックイン (KO/KI) 個体は、マウスでは ES 細胞への遺伝子操作後にキメラを介して作製されるが、現在のところ生殖器官へ寄与可能な ES 細胞は樹立されていない。そこで、遺伝子組換え ES/体細胞をドナーとして、クローン技術の応用による遺伝子組換えマーマーモセットの作製について検討する。

4. 概要

クローン技術の応用により遺伝子組換えマーマーモセットを作製するため、実験動物中央研究所との共同研究により、以下のように取り組む。

1) ドナー細胞の作製

樹立した ES/体細胞について Tg ならびに KO/KI 操作を施すことで遺伝子組換え細胞株の樹立し、クローン (核移植) 実験のドナー細胞とする。また、必要に応じて、種々のマーカーによる細胞特性の確認を行う。

2) 生殖工学技術の基盤整備

卵胞卵子採取方法の検討、配偶子・胚の体外培養法の検討を行う。

3) 核移植法の構築

卵子活性化の条件、核移植法、ES/体細胞由来クローン胚の体外発生能について検討する。また、クローン胚における核の動態および遺伝子発現様式を調べ、ドナー核の再プログラムの状況について解析を行う。

4) 個体作製試験

遺伝子組換え細胞をドナーとしてクローン胚を作製し、仮親へ移植することで個体発生試験を行う。クローン産仔が得られた場合は正常性の解析を行い、状況に応じて胎子発生について調べる。

5. 実施体制

