

霊長類モデル「霊長類モデル動物の創出・普及体制の整備」  
遺伝子改変マーマセットの汎用性拡大および作出技術の高度化とその脳科学への応用

1) 研究課題名

「遺伝子改変マーマセットの汎用性拡大および作出技術の高度化とその脳科学への応用」

2) 所属機関名 / 氏名

公益財団法人 実験動物中央研究所 佐々木 えりか

3) 目的

我々が確立したレンチウイルスベクターによる遺伝子改変マーマセット作出法は、現在までに未発表を含め 8 系統の遺伝子改変マーマセット作出に成功し、複数機関への技術移転も完了した安定した技術である。一方で、レンチウイルスベクター法は内在性標的遺伝子のノックアウト、ノックイン動物の作出および 8kb 以上の外来遺伝子の導入が困難である。遺伝子改変霊長類を用いた脳科学研究の実現化および多くのユーザのニーズに応えるためには、これらの技術の確立が重要である。そこで近年開発されたゲノム編集技術を用いた内在性標的遺伝子のノックイン動物作出技術およびトランスポゾンベクターを用いた 8kb 以上の外来遺伝子の導入可能な技術を確立する。

遺伝子改変霊長類作出は、動物実験の 3R に配慮した技術確立が重要となる。そこで低侵襲化技術の確立により、動物への負担軽減による使用動物数を減少し、作出コスト削減を目指す。また遺伝子改変マーマセットの普及を目指し、マーマセットのニーズ調査、学術情報の開示による新規ユーザへの開拓および動物実験のサポートなどを通じて需要拡大に向けた戦略を展開する。

4) 概要

1. 遺伝子改変マーマセット作製技術の高度化

ゲノム編集技術は、受精卵のゲノムに直接内在性標的遺伝子の改変を行うことが可能なことから、キメラ動物を作製可能な多能性幹細胞が存在しない動物種では KO、KI 動物作出を可能にする技術として注目されている。そこで本研究では、昨年発表された CRISPR/Cas9 を用いて受精卵で発現する内在性遺伝子への蛍光タンパク質遺伝子導入 KI マーマセット作製を目指す。

また 8kb 以上の遺伝子の導入を可能にするため、100kb 程度までの遺伝子を導入可能なトランスポゾンベクターによる遺伝子導入技術を確立する。遺伝子改変マーマセット作製にトランスポゾンベクターを使用する際、遺伝子の染色体への挿入の確認が困難であるが、実験動物中央研究所と慶應義塾大学では、染色体への導入遺伝子の挿入を確認可能なベクターを開発してきた。このトランスポゾンを用いにより、大きな導入遺伝子を挿入した遺伝子改変動物作出を可能にする。これらの高度化技術により、脳科学研究に有用なマーマセットでもマウスと同等に遺伝子改変モデルを作出することを可能にする。

2. 遺伝子改変マーマセット作出技術の低侵襲化

我々の遺伝子改変マーマセット作出法は動物の安楽殺を必要としないが、マーマセットはストレスに弱い動物であるため、実験操作上必要な捕獲、保定、手術などにより衰弱し、人道的

エンドポイントにより安楽殺に至る場合がある。そこで動物に負担を与えない技術開発を行い、より長く1頭の動物を使用可能にすることにより、動物実験の3Rに資すると共に低コスト化を目指す。

### 3. マーモセット需要拡大に向けた戦略推進およびビジネスモデルの構築

本課題終了後に、マーモセットを持続的安定供給していくため、全期間を通じて新規ユーザおよびマーモセットを保有していない研究者へのマーモセット臓器・組織の提供、共同研究、動物実験サポート、マーモセット取扱い技術講習およびマーモセット飼育施設立上げサポートなどによりユーザを拡大する。また、これらのユーザが国際的に成果を発表する際に、動物生命倫理の観点から発表を妨げられないことがないように、欧米を中心とした霊長類の動物生命倫理のガイドライン等の動向調査を行い、ユーザへの情報提供、コンサルティングを行う。

### 5) 実施体制

機関における実施体制は図示したように3つのサブテーマの業務を平行して推進する。研究総括は、研究代表者の佐々木えりかが行い、マーモセットの聞き取り調査は、インビボサイエンス株式会社に業務を委託する。また低侵襲化技術の開発について、実用化可能な技術が開発された時点で、遺伝子改変マーモセット作製を行う、基礎生物学研究所、広島大学と随時情報共有する。

