

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

「キメラ形成能を持つマーマセット ES 細胞を用いた新たな遺伝子改変技術の開発とマーマセットゲノム情報基盤の確立」

2) 所属機関名 / 氏名

慶應義塾大学 岡野 栄之

3) 目的

トランスジェニックマーマセットの開発 (Sasaki et al., *Nature*, 2009) は遺伝子改変技術が困難であったため研究が限られていた霊長類でも、遺伝子改変マーマセットを用いた多角的な研究を可能にした。本研究計画では、遺伝子改変技術の高度化、遺伝子改変マーマセットの低コスト化と普及に向け、1) 新たな霊長類遺伝子改変技術としてキメラ形成能をもつマーマセット ES 細胞の樹立し、内在性遺伝子への改変技術を開発しノックアウト・ノックイン動物を作製する、2) 既に作製されている変異型 α -synuclein や変異型 TDP43 トランスジェニックマーマセットをそれぞれパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症のモデル動物としての有用性を実証する、3) 今後のマーマセット研究の発展に向け、日本で使われているマーマセットコロニーのゲノムを解読し、完成度の高いマーマセットゲノム情報データベースを構築する、という 3 つの目標の達成を目指す。

4) 概要

上記の3つの目標を対応させ、図1に示すような3つのサブ業務項目に分け概要を述べる。

1. キメラ形成能を有するマーマセットES細胞を利用した新たな遺伝子改変技術の開発

現在の霊長類トランスジェニック技術は、外来遺伝子を強制発現させることはできるものの、内在性遺伝子に対しては遺伝子改変を行えないなどの欠点がある。従来、霊長類のES細胞は、マウスES細胞と異なり、

多分化能はあるもののキメラ形成能がないため（プライムド状態）、マウスES細胞で行われているような相同組換えを利用した遺伝子改変動物は作製できないと考えられてきた。

このような状況を踏まえ、我々はキメラ形成能を有するマーマセットES細胞作製技術と、ゲノム編集技術によるマーマセットES細胞に対する遺伝子組換え技術を確立し、内在性遺伝子に対する新たな遺伝子改変技術の開発を目指す。

2. 神経変性疾患モデルマーマセットの病態解析

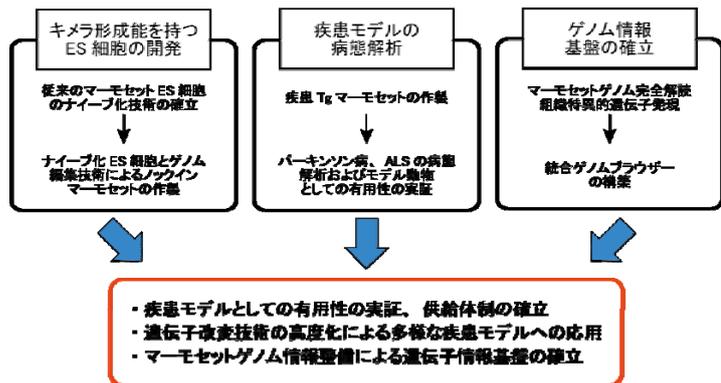


図1 プロジェクトの概要

変異型 α -synuclein および変異型 TDP43 を強制発現させるトランスジェニックマーマーモセットを作製し、それぞれ神経変性疾患であるパーキンソン病 (PD)、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) モデルとして病態を検証し、霊長類モデル動物として普及・供給を目指す。本研究計画では、経時的な脳画像撮影に加え、組織学的解析、細胞学的解析、行動解析なども行い、多角的に病態変化を解析する。

3. マーマーモセットゲノム情報基盤の確立

霊長類のゲノム配列解読においては、ヒトをはじめとして多くの種のゲノム情報が UCSC ゲノムブラウザーに登録されている。コモンマーマーモセットに関しては、米国においてワシントン大学を中心にゲノム配列の解読が試みられ、ドラフト配列が公開されているが、カバー率が約6倍で、まだ約12万箇所 (合計150Mbp) の未読部分がある。また実中研のマーマーモセットは十年以上クローズドコロニーであったことから、遺伝的背景にも差異が存在する。マーマーモセットをバイオメディカル研究領域において有用な実験動物とするには、ゲノム情報解析基盤の確立が急務である。そこで、オミックスデータを統合したマーマーモセットゲノムブラウザーを開発することにより、前臨床研究の進展に資することを目的とする。

5) 実施体制

慶應義塾大学ではマーマーモセットの MRI 画像技術開発と精神・神経疾患モデルの作製において先駆的な研究を行ってきた岡野栄之が業務主任者として、上記3つのサブ業務項目を総括する。具体的には図2に示すように、それぞれのサブ業務項目に担当責任者を置いて個別のプロジェクトを実施担当者と共に進める。キメラ形成能

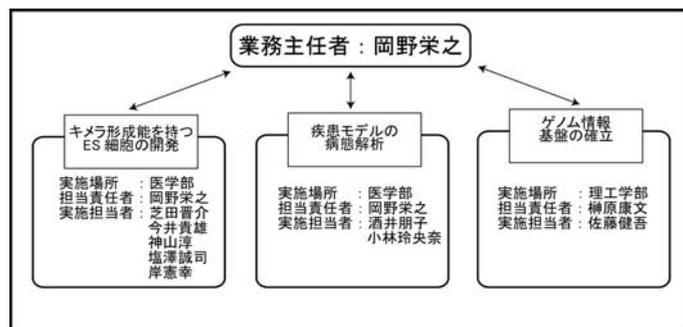


図2 実施体制

をもつ ES 細胞の開発や疾患モデルの病態解析については、岡野が担当責任者として医学部において行うが、キメラ胚、クローン胚の作製に関しては実中研や広島大学と共に行う。また疾患モデルマーマーモセットの作製に関しても実中研と連携する。マーマーモセットゲノム情報基盤のサブ業務項目に関しては、既に日本国内のマーマーモセットコロニー由来のゲノムに対して、次世代機によるゲノム配列のデータ解析に着手している理工学部の榎原が担当責任者として理工学部において行う。各プロジェクトの進捗状況を確認するため定期的にミーティングを開催する予定である。