

平成 17 年度 研究リソース開発 成果報告書

平成 18 年 3 月 6 日提出

ふりがな	さきむら けんじ	所属・職	新潟大学 脳研究所 ・ 教授
開発代表者名	崎村 建司		
開発課題名	C57BL/6 由来 ES 細胞を用いたコンディショナルノックアウトマウス作成支援事業		

開発経過及び成果(開発目標に対する成果を計画書に記載した内容に対応させて記載すること)

本研究開発支援事業の目的は、我々が開発した「C57BL/6 純粋遺伝的背景におけるコンディショナルノックアウトマウス作成系」を用いて脳の部位・時期特異的に標的遺伝子を欠損させることを目的とする研究を支援し、我が国の世界に対する独自性を高めることである。このために、統合脳5領域の班員が C57BL/6 純粋遺伝的背景コンディショナルノックアウトマウス作成に取り組むプロジェクトを支援することにし、「C57BL/6 由来 ES 細胞を用いたコンディショナルノックアウトマウス作成支援事業」の名称で班員から申込者を募集した。その結果、18件の応募があり、これらを2つに分けて対応した。まず、5名の計画班員からの申請は、統合脳の発展に資するものであり、かつすぐに成果が期待できるものであるため、必要経費を負担することを了承した応募者は、制限なしで支援することにした。その結果、4名から経費を負担する旨の返事を受けたので、4件8系統のマウス作成を崎村と三品両研究室で分担し支援することにした。一方、公募班員からの申請は、積極的に支援し班全体の底上げをはかるという観点から、その金銭的リソースはこちらにすべて投入することにした。なお、選考の基準として 次のような視点を考慮した。

- 1) 統合脳の目的に合致し、発展に寄与することが期待出来る。
- 2) 目的が明確で、実験計画が具体的である。
- 3) 3年以内に具体的な成果が期待出来る。
- 4) 実験従事者のスキルは充分であり、マウスの受入等の準備も適切である。
- 5) 特定の領域のみに集中しないこと。

3名の審査委員と崎村、三品により12名の公募班員からの申請より次の5件7系統のものを支援対象として選択し、1件あたり200万円までの作成費の援助をおこなうこととした。支援対象者は、岡村康司(4領域)、森 寿(4領域)、宮川剛(5領域)、高橋良輔(5領域)、谷口雅彦(3領域)の5名である。これらの支援者とは直ちに連絡を取り、具体的な作成計画の打ち合わせをおこない、準備のできたところから作成を始めた。

現在までに、計画班員のものは全て順調にマウス作成が進んでおり、当初計画していた8系統のマウスのうち6系統でキメラマウスが取れており、その内何系統かは生殖系列遺伝を確認して年度内に引き渡せる予定である。一方、公募班員のものはラボ間で進捗状況が異なっており、一部ベクター作成過程で難渋しているものもあるが、全体的には順調に推移していると考えている。とりわけ、大学院生を派遣して作成をおこなっている公募班員の計画マウスは、着手してから3ヶ月でキメラマウス作成段階まで来ており、申し分ない速度で進捗している。

開発成果を踏まえた今後の展開

本研究リソース開発は、我々が樹立した C57BL/6 由来 ES 細胞 RENKA を用いて、脳機能解析に有用なコンディショナルノックアウトマウスを作成し、統合脳の班員で共通リソースとして利用することを目的とする。C57BL/6 系統マウスの有用性は、2006 年 9 月から米国 NIH がマウス遺伝子の網羅的ノックアウトを C57BL/6ES 細胞でおこなう計画を発表しているように、質の高い個体レベルの解析には均一な遺伝的背景が必須であり、世界的な潮流であることから明らかである。しかしながら、これまでに報告されている C57BL/6 系統での遺伝子改変マウスは 50 系統にも満たないのが現状である。我々の開発した C57BL/6 由来 ES 細胞から遺伝子組換えマウスを作成する方法は、その生殖系列遺伝の効率がが高く、17 年度実績でも 35 系統以上の ES 細胞から生殖系列遺伝するキメラマウスを作出している。したがって、純粋 C57BL/6 遺伝子背景を持つ遺伝子変異マウスの大規模な開発は、この分野で我が国の世界に対する独自性を高めることになり、大きな意義を持つ。とりわけ、このようなマウス研究開発を班研究としておこなう意味は、共通財産としてのマウスリソースにある。コンディショナルノックアウト法は、標的遺伝子に loxP を持つ標的マウスとその標的を部位・時期選択的に組換える Cre マウスの交配でおこなわれる。このことは、ある研究者の興味で作成された標的マウスを、別の研究者が異なった興味で研究できるということである。今回は、マウス作成支援を要する研究者を公募の形で選考し、対象となる遺伝子を決定した。この支援をするときの条件として、将来作成したマウスは統合脳というコミュニティーのリソースとして活用することに同意してもらっている。したがって、一定の時間が経過した後は、作成したマウスは公開され、他の研究者にも使用する道が拓けている。同一コミュニティーということで、マウス使用に関する研究内容の調整が可能であり、個別に作成するよりも、経費や時間面などではるかに効率的である。このことを担保するためには、作成したマウスを一定時間が経過した後に班員に公表し、共同研究に供することが重要である。

17 年度は、4 名の計画班員と 5 名の公募班員からの合計 15 系統のマウス作成を支援してきた。これら作成したキメラマウスは、生殖系列遺伝を確認し、体外受精により SPF 化した後に各研究者に送付する予定である。今後、遺伝子全欠損を引き起こす必要がある場合は、生殖細胞で Cre を発現するマウスとの交配をおこなう。また、我々の持つ部位選択的に Cre を発現するマウスによるコンディショナルノックアウトマウス作成をおこなう場合は、共同研究ベースでマウスの交配をおこなう。それぞれの解析対象マウス（コンディショナルノックアウトマウス）は、作成依頼者が中心となり解析をおこなう予定である。

本プロジェクトを遂行するにあたり問題となっている点を以下にあげておく。まず、施設ごとに異なるマウス受け入れの基準である。作成したマウスを SPF 化して送付しなければならないが、その受け入れ基準が施設ごとに異なっており、そのことにより時間と手間を要する点である。一般的には、凍結胚、凍結精子での移送が最も簡便で安全なものと思われるが、対応出来ない施設もある。この問題を解決するには、学会などの主導で安全基準を整備し、施設間でのマウス移送の基準を作る必要がある。次に、研究室内の負担の問題である。今年度は公募班員の 5 件に加え計画班員の申請を 4 件引き受けたために、当初想定していたより負担が重くなった。具体的には、直接指導する研究者の時間的・精神的負担の増加と、ES 細胞の培養やマウス飼育に関わる人の負担増加である。とりわけ、飼育マウスの増加による飼育施設の経費やテクニシャンの時間外労働など当初予定していた以外の経費の増加は、今後の計画を進める上で考慮しなければならない。