

**研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
本格研究開発ステージ ハイリスク挑戦タイプ 平成 23 年度終了課題
事後評価報告書**

研究開発課題名	創薬シーズ開発の効率化に向けた次世代疾患モデルマウスの迅速作製技術開発
プロジェクトリーダー	
所属機関	株式会社 免疫生物研究所
研究責任者	新藤 隆行(信州大学)

1. 研究開発の目的

新しい医薬品開発や、治療標的となる疾患関連因子の病態生理学的意義を解明する上で、ノックアウトマウスなどの遺伝子改変マウスは、重要な研究ツールである。このため、いかに効率的に疾患関連因子の遺伝子改変マウスを開発、活用出来るかが、医薬品開発の成否に少なからぬ影響を与えることになる。しかしながら、従来の方法での遺伝子改変マウス作製は大変複雑で、労力や時間を有する。また複雑な多数のステップを踏むため、結果的に作製に失敗する例も多い。本課題では、短期間に、迅速かつ正確に、多目的解析を想定した遺伝子改変マウスの作製を可能とするシステムを開発し、医薬品開発の効率化に応用する事を目的とする。

2. 研究開発の概要

①成果

研究開発目標	達成度
<p>①目標: 遺伝子改変マウス作製のための新規コアカセットベクターの開発。 実施内容: 遺伝子改変マウスの作製を簡便化するために、視覚的に検出可能なマーカをコードする配列を備える新規遺伝子改変ベクターを開発した。検出配列の他、原核生物の増殖を阻害する薬剤耐性マーカをコードする耐性配列、原核生物で機能するプロモータ配列、下流配列の発現を誘導する調節配列などを含む新規ベクターを開発した。</p>	<p>①基本的なベクター設計と構築を終了し、実際にES細胞に導入した場合、相同組換えを起こしたES細胞クローンを識別出来ることを確認した。実際の遺伝子改変マウス樹立を進め、ベクターを複数構築した。そのうちの3ラインはマウス樹立に成功した。</p>
<p>②目標: 胚の確保、胚培養に関する新規手法の開発。 実施内容: マウス作成に要求される、発生効率の高い良質な胚を安定供給する技術と体制を確立した。特に、胚培養プロトコルを改良する事により、受精卵から2細胞への発生効率の向上を目指した。</p>	<p>②胚培養プロトコルの改良により、受精卵から2細胞への発生効率の向上が得られ、良質な胚が安定して得られる様になった。今後、キメラマウス作製に使用される段階の胚についても、胚培養プロトコルの改良を進める計画である。</p>
<p>③目標: 生殖系列マウスを効率よく得るた</p>	<p>③キメラマウスを検定交配用の雌と交配させ、交</p>

<p>めの新規マウスラインの開発。</p> <p>実施内容: 遺伝子改変を次世代に伝えることができる生殖系列キメラマウスを効率良く得るための新規マウスラインの作成を試みたが、研究期間内には完成に至らなかった。代替法として、生殖系列キメラマウス候補個体を優先的に選別する方法についてプロトコールを作成した。</p>	<p>配能の確認と共に、交配した雌の膣栓からキメラマウスの精子を回収する。これを溶解させ、PCRテンプレート液を調製し、導入した遺伝子改変を特異的に増幅するPCR判定を可能とした。</p>
--	--

②今後の展開

これまでの A-STEP 研究2年間の成果(①遺伝子改変マウス作製のための新規コアカセットベクターの開発。②胚の確保、胚培養に関する新規手法の開発)を元にし、医薬開発に応用可能な疾患モデルマウスを、短期間、低コストで作製する新技術=SCOT(Speed Conditional Gene Targeting)を完成させ、企業化に向けて、研究シーズを強化する。

3. 総合所見

遺伝子改変を次世代に伝えることができる生殖系列キメラマウスを効率良く得るための新規マウスラインの開発は、研究期間内には完成に至らなかったものの、遺伝子改変マウス作製のための新規コアカセットベクターの開発、並びに胚の確保、胚培養に関する新規手法の開発については成果が得られ、短期間で遺伝子改変マウス作製に道筋をつけたことは評価出来る。今後は、得られた成果による具体的な受注を通じて、ニーズの高い遺伝子改変マウスの作製を行い、実績を積み重ねていく中で、迅速性、低コスト、確実性を一層みがきあげて本技術を普及させることを期待する。