

「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」  
平成 14 年度採択研究代表者

松岡 英明

(東京農工大学 教授)

### 「疾患モデル細胞の高効率創製と機能解析」

#### 1. 研究実施の概要

本研究プロジェクトは、最終的に10の何乗個の遺伝子を改変した細胞を創製し、網羅的なデータ解析に基づいて、疾患モデル細胞という新しい概念を提示することを目的としている。そのために、最も技術的に困難である、マイクロインジェクションによる遺伝子改変技術を簡便迅速、さらには完全自動化を目指すことを第一の目標に掲げている。今年度の成果として、既に関済済みのロボット1号機を用いて、細胞操作条件や遺伝子導入条件、遺伝子導入後の細胞操作条件等について検討し、操作性の向上を目指して、ハード及びソフトを改良ないし新規開発した。また、マルチマイクロウェルに細胞収納する方式で、イネプロトプラストに2種類の遺伝子をインジェクションし、その発現効率を調べた。今後は、この技術をES細胞に適応し、RNAi法によるノックアウト細胞を作製する。この場合、標的とする疾患関連遺伝子として糖尿病関連遺伝子であるPdx-1に着目し、Pdx-1ノックアウトES細胞を作製し、細胞レベルでの糖取り込み活性などを指標としたアッセイについて評価すると同時に、新たなアッセイ系の開発も試みる。この新規RNAi法の妥当性を検討するために、従来法であるジーントラップ法を改良した方法を開発し、検討を行うこととする。また、遺伝子改変ES細胞からノックアウトマウスを作成する効率は極めて低いため、個体レベルでのアッセイにはクローンマウスを用いる。これは、ES細胞をドナーとしたクローンマウスの作出は比較的成功率が高く、安定していることによる。一連の解析結果により、疾患モデル細胞を作製し、細胞から個体までの各段階における解析が可能になると考えられる。

#### 2. 研究実施体制

松岡グループ

①研究分担グループ長：松岡英明（東京農工大学・教授）

②研究項目：

(1) ロボットを用いた細胞操作条件の最適化

(2) 疾患原因遺伝子に関する既往の知見の収集と機能発現機構の考察

- (3) 単一ES細胞の遺伝子改変のための要素技術の開発
- (4) クローンマウスおよび未成熟マウスの各部組織からの疾患モデル細胞の収集と機能解析

#### 稲垣グループ

- ①研究分担グループ長：稲垣暢也（秋田大学・教授）
- ②研究項目：
  - (1) 疾患原因遺伝子を標的として改変した細胞の作成と細胞機能解析

#### 小倉グループ

- ①研究分担グループ長：小倉淳郎（理化学研究所・室長）
- ②研究項目：
  - (1) クローン作製におけるドナー細胞の違いの比較
  - (2) クローンマウス産子の正常・異常判定及び遺伝子発現パターン解析
  - (3) クローンマウス及び未成熟マウスの各部組織からの疾患モデル細胞の収集

#### 丹羽グループ

- ①研究分担グループ長：丹羽仁史（理化学研究所・グループリーダー）
- ②研究項目：
  - (1) 新規ジーントラップ法による遺伝子マーキング
  - (2) 変異ES細胞の系統的作出とその解析法の確立