

ゲノム機能解析に資する遺伝子操作マウスの 胚・配偶子バンク確立のための基盤的研究開発

I 試験研究の全体計画

1. 研究の趣旨

ゲノム機能の解析は、ヒトゲノム構造の解析に続く次世代の主たるプロジェクトである。その目的を達成するには、10万近く存在すると推定される遺伝子に突然変異を持つ個体を作ることが最も良い方法と考えられる。しかし、突然変異を飽和させるまでどのようにして作り、集めるか、またこの莫大な数の個体をどのように解析するかが問題となる。

ゲノムの機能単位に変異を起こしたマウスを保存し、必要な時に必要な場所で利用できるようにすることは、ゲノム情報の基礎研究を行っている研究者だけにとどまらず、この情報を医療や産業に応用する技術を開拓する研究現場からのニーズも高い。しかし、機能単位を効率的に探索する方法と、利用しやすい形で保存する方法が確立されておらず、新しい遺伝子改変技術の開発とともに、作出された遺伝子操作マウスの保存システムの樹立が期待されている。

遺伝子操作マウスの作成は、トランスジェニックマウスが1980年、ノックアウトマウスが1989年に初めて報告され、現在までに、トランスジェニックマウスも世界的には1000系統を越えたとみられている。これらの数の増え方は、年間日本だけでも100近くに上り、大学の動物実験施設等はバンク状態を呈しており施設拡充の要求が相次いでいるが、全体の急速な拡充は望めず、センター化などが議論されている。

以上のことを考慮に入れると、遺伝子操作胚・配偶子バンクの樹立を目指した知的基礎整備を行うことが、重要かつ緊急の課題であるといえる。

本研究では、莫大な数の突然変異を必要に応じて計画的にマウス個体として生産し、有効利用できる胚バンクの確立を目指し、胚・配偶子またはES細胞などの凍結保存を含む生殖工学技術に関する開発研究を行う。例えば、胚・配偶子の迅速簡便、かつ、失敗のない安定な保存技術と、凍結のまま各地に送ることができるようにするため、ドライアイスでも死なないような耐凍剤の開発などの技術開発や、煩雑な操作が必要な遺伝子操作マウスの作成を画期的に変革できる可能性を追求する。そして遺伝子トラップ法によりゲノムの機能単位に網羅的に突然変異を起こしたマウスの作成とそのスクリーニング法の開発に関する研究を行い、遺伝子マッピングによりゲノムデータベースとリンクしたデータベースを構築していく。これらの基盤的研究開発に基づき、将来的にその有効な運営を目指す。

2. 研究概要

本課題は第一に、多面的利用が可能な胚・配偶子バンクの確立に資するため、遺伝子操作を行った胚・配偶子またはES細胞を凍結保存することを中心とした生殖工学的技術の開発と標準化および普及に関する研究を行う。第二に、バンクに保存される新しい遺伝子資源の作成に必要な遺伝子操作技術の開発に関する研究を行う。これら2つの柱を相互に有機的に機能させることにより効率的な胚・配偶子バンク（ワーキングバンク）の設立に向けての基盤を作る。

1. 遺伝子資源保存のための生殖工学技術に関する研究

遺伝子機能解析に必要とされる改変遺伝子資源の効率的な保存に資するため、生殖工学技術に関する研究を行う。

① 胚・配偶子およびES細胞凍結保存技術に関する研究 (株三菱化学生命科学研究所, 東京大学医科学研究所)

胚・配偶子(①-1)およびES細胞(①-2)の凍結保存や輸送法の標準化と普及に資するため、凍結保存技術の開発・改良に関する研究を行う。

② 配偶子形成の遺伝子操作技術に関する研究 (株三菱化学生命科学研究所)

新たな遺伝子操作動物作成技術の開発に資するために、生殖細胞の培養制御と遺伝子導入操作技術を背景として、精子形成における遺伝子組換え体作成技術の開発に関する基盤研究を行う。

2. 遺伝子機能の選択的改変のための基盤技術に関する研究

胚・配偶子バンクに保存され、多方面の研究領域で有効利用されるべき新しい遺伝子資源の作成に資するため、ゲノム遺伝子の供給と新規遺伝子操作マウス作成技術の開発に関する研究を行う。

① 飽和突然変異マウス作成法の開発に関する研究 (助癌研究会癌研究所, 熊本大学医学部)

多種多様な細胞種における発現特異性を指標とする遺伝子操作マウスのライブラリー化に資するため、新たに開発した遺伝子トラップやエンハンサートラップベクターのゲノム遺伝子への挿入により、ES細胞に網羅的に遺伝子操作を施す技術の開発に関する研究を行う。遺伝子トラップのスクリーニング方法としてES細胞(①-1)あるいはES細胞を分化させた胚様体(①-2)における標識遺伝子の発現を指標として選別する。

② 特異的発現制御による遺伝子機能の標識化技術の開発に関する研究

(株三菱化学生命科学研究所)

特定の組織や細胞における遺伝子機能解析に資するため、

特異的に発現する遺伝子の発現制御機構をもとに選択的に遺伝子进行操作し、その発現によって組織細胞を標識化する技術の開発に関する研究を行う。

③ 実験動物による遺伝子機能解析のための DNA 材料の作出と供給

(厚生省国立感染症研究所)

遺伝子機能解析に必要な DNA 材料の供給に資するため、

遺伝子発現制御領域を指標としたゲノム DNA の分離をマウス DHA ライブラリーを用いて探索する。また、これまで分離されているヒト遺伝子で機能未確定のものを選定し、そのマウスにおける相同遺伝子を分離して供給する。さらに、ゲノムデータベースとリンクした新規突然変異遺伝子のマッピングによるデータベースを構築する。

3. 年次計画

研究項目	9年度	10年度	11年度	12年度	13年度
1. 遺伝子資源の保存のための生殖工学技術に関する研究					
① 胚・配偶子およびES細胞の凍結保存技術に関する研究	凍結保存技術の開発・改良と標準化		胚・配偶子バンクの試作・運用		
② 配偶子形成の遺伝子操作技術に関する研究	生殖細胞の培養制御の開発確立		精子形成細胞細胞への遺伝子導入		
2. 遺伝子機能の選択的改変のための基盤技術に関する研究					
① 飽和突然変異マウス作成法の開発に関する研究	遺伝子トラップに資するベクターの開発		遺伝子トラップによるES細胞の突然変異株作出と保存		
② 特異的発現制御による遺伝子機能の標識化技術の開発に関する研究	特異的発現を示す遺伝子の選別		遺伝子の単離とマッピング		
③ 実験動物による遺伝子機能解析のためのDNA材料の作出と供給	ゲノムバンクから特定遺伝子の分離		ES細胞への導入と標識化した個体の作成		
	選択的に遺伝子改変を起こすベクターの開発		特異的発現を示す突然変異体の選別		
				データベース構築の検討	
所要経費(合計)	218百万円	220百万円			

II 平成10年度における実施体制

研究項目	担当機関	研究担当者
1. 遺伝子資源保存のための生殖工学技術に関する研究 ① 胚・配偶子およびES細胞の凍結保存技術に関する研究 ①-1 ①-2 ② 配偶子形成の遺伝子操作技術に関する研究	㈱三菱化学生命科学研究所 東京大学医科学研究所 ㈱三菱化学生命科学研究所	横山 峯 介 中村 健 司 野瀬 俊 明
2. 遺伝子機能の選択的改変のための基盤技術に関する研究 ① 飽和突然変異マウス作成法の開発に関する研究 ①-1 ①-2 ② 特異的発現制御による遺伝子機能に標識化技術開発に関する研究 ③ 実験動物による遺伝子機能解析のためのDNA材料の作出と供給	助癌研究会癌研究所 熊本大学医学部 ㈱三菱化学生命科学研究所 厚生省国立感染症研究所	八尾 良 司 荒木 喜 美 井ノ口 馨 橋本 雄 之

III 運営委員会

委員	所 属
○藤本 弘 一	㈱三菱化学生命科学研究所 先端研究部門主任研究員
相沢 慎 一	熊本大学 医学部遺伝発生医学研究施設形態発生部門教授
勝木 元 也	東京大学 医科学研究所獣医学部門教授
小林 利 克	㈱三菱化学生命科学研究所 副所長
野田 哲 生	助癌研究会 癌研究所細胞生物部部長
橋本 雄 之	厚生省 国立感染症研究所遺伝子資源室長
山村 研 一	熊本大学 医学部遺伝発生医学研究施設発生遺伝部門教授
横山 峯 介	㈱三菱化学生命科学研究所 生殖工学開発室長

(注：○は運営委員長)