

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

ヒトゲノムの構造解析が間近になり、それぞれの遺伝子の機能を解析する有効なツールとして必要なミュータントマウスの作成は、日々増加している。これらのミュータントマウスを各研究機関で飼育していくことは不可能であり、折角作成したミュータントマウスを失いかねない。このような遺伝子資源のリスク回避、また、研究者間で遺伝子資源の共有を計って有効に活用するためには、ミュータントマウスの胚または配偶子を凍結保存して集中管理する技術を開発して、マウス胚バンクを確立することが必要である。ゲノム機能解析の問題は、基礎研究のテーマとしてのみならず、ミュータントマウスをモデル動物として医療や産業に応用する展望を睨んだベンチャー企業が生まれつつあることから、応用研究さらに新産業の創生発展へと繋がりがつとあると考えなければならない。マウス胚バンクの確立は、平成9年度に知的基盤整備推進制度によりこの試験研究が開始されて以来、益々その必要性が急務となってきた。

マウス胚バンクを確立して保存管理体制を運用するためには、単に技術の開発のみならず、技術が標準化されることと、そのために技術の普及を呼びかける必要性が指摘される。また、これらの技術に熟練した技術者が養成され、マウス胚バンクを効率的に運用できるセンターが設立されることが必要となる。本研究の前期では、安定で迅速簡便な胚凍結保存技術を開発して、技術の標準化とその普及に努めてきた。後期計画においては、これらの技術を駆使して、ミュータントマウスの系統を保存し、試作バンクの構築を試みている。また、胚バンクとしてミュータントマウスの保存をより効率的に行うためには、これまでの技術に加えて、より画期的な新技術の開発が早急に望まれ、新規技術の開発検討にも着手した。

本年度の計画は、昨年度に引き続き、「遺伝子資源保存のための生殖工学技術の開発」および「配偶子形成の新規な遺伝子操作技術の開発」に重点化して進める。第一の課題として、前期で確立してきた胚・配偶子凍結保存技術の普及をさらに進めて試作バンク構築を目指し、胚バンクの運用に際して生じる問題点を効率的に解決することを検討する。第二の課題として、遺伝子資源の保存、新しいミュータントマウスを作成するための基本技術などを画期的に改革する新規生殖工学技術の導入と開発を図る。本年度は、この試験研究の最終年度であり、総合的にマウス胚バンク

確立のための基盤的研究開発を目指して、データベースの構築を目標とする。

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、その技術の普及に努める。また、前期で確立された技術とともに、自作したミュータントマウス、また外部研究機関から寄託を受けたミュータントマウスの胚・配偶子の凍結保存を行うバンキングを進めて、データベースの構築を目指していく。第二に、バンクに保存される新しいミュータントマウスの作成に必要な配偶子の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・配偶子バンクの確立に向けて基盤を作る。

1. 遺伝子資源保存のための生殖工学技術に関する研究

(1) 凍結保存技術の普及とバンキング技術に関する研究

(株)三菱化学生命科学研究所生殖工学開発室 横山峯介)

胚・配偶子バンクの確立に資するため、胚・配偶子凍結保存の標準技術を普及させ、またその技術を使ってバンキングを行い、胚バンク・データベースの構築に関する研究を行う。

(2) 生殖工学技術によるミュータントマウス生産技術システムに関する研究(岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所 勝木元也)

ミュータントマウスの胚・配偶子バンクの機能的な運用に資するため、遺伝子資源となるミュータントマウスを作成し、その胚および精子の凍結保存を行うために重要な技術基盤となる各種の生殖工学技術を開発・改良し、その実用化に関する研究を行う。

2. 配偶子形成の新規遺伝子操作技術開発に関する研究

(1) 精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先端研究部門 野瀬俊明)

精子形成細胞とその前駆体である生殖幹細胞を用いた新規生殖工学技術の開発に資するため、生殖細胞の培養条件下における発生分化制御および精子形成細胞への遺伝子導入法の検討により、新たな遺伝子改変動物作成のための基盤研究を行う。

(2) 配偶子操作による遺伝子改変技術に関する研究

(株)三菱化学生命科学研究所生殖工学開発室 東 貞宏)

遺伝子資源の新たな保存法の開発とミュータントマウスの作成の効率化に資するために、運動性の消失した精子の

保存条件を検討し、顕微鏡下のマニピュレーションによる授精（顕微授精）技術を用いて、精子と外来遺伝子の卵子への導入により、新たな遺伝子導入動物の作成法の開発に関する研究を行う。

(3) 核移植クローン技術によるミュータントマウス作成に関する研究（厚生労働省国立感染症研究所獣医科学部実験

動物開発室 小倉淳郎）

効率的にミュータントマウスを作成する技術の確立に資するため、体細胞の核内遺伝子発現の初期化条件を指標遺伝子の発現を定量化することにより検討し、体細胞核移植によるクローンマウス個体の作成技術の改良に関する研究を行う。

3. 年次計画

研究項目	9年度	10年度	11年度	12年度	13年度
	第I期				
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) 凍結保存技術の普及とバンキング技術に関する研究				凍結保存技術の普及	データベース構築
(2) 生殖工学技術によるミュータントマウス生産技術システムに関する研究				胚・配偶子バンクの試作運用	凍結保存によるバンキング
2. 配偶子形成の新規遺伝子操作技術開発に関する研究				ミュータントマウス生産技術のシステム化	
(1) 精子形成の遺伝子操作技術に関する研究				生殖細胞の移植操作	精子形成細胞への遺伝子導入
(2) 配偶子操作による遺伝子改変技術に関する研究				造精幹細胞操作のための基盤研究	組換え体作成技術の開発
(3) 核移植クローン技術によるミュータントマウス作成に関する研究				顕微受精の最適条件の検討	外来遺伝子導入法の開発
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				ミュータントマウス作成	核移植クローン技術の改良
・飽和突然変異マウス作成法の開発に関する研究					初期化条件の検討
・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					
・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					
所要経費（合計）	218百万円	220百万円	222百万円	198百万円	193百万円

II 平成13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) 凍結保存技術の普及とバンキング技術に関する研究	(株)三菱化学生命科学研究所	横山 峯 介
(2) 生殖工学技術によるミュータントマウス生産技術システムに関する研究	岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所	勝 木 元 也
2. 配偶子形成の新規遺伝子操作技術開発に関する研究		
(1) 精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	野 瀬 俊 明
(2) 配偶子操作による遺伝子改変技術に関する研究	(株)三菱化学生命科学研究所	東 貞 宏
(3) 核移植クローン技術によるミュータントマウス作成に関する研究	厚生労働省国立感染症研究所獣医科学部実験動物開発室	小 倉 淳 郎
3. 研究運営	(株)三菱化学生命科学研究所	藤 本 弘 一

III 運営委員会

委 員	所 属
○藤 本 弘 一	(株)三菱化学生命科学研究所 先端研究部門長
東 貞 宏	(株)三菱化学生命科学研究所 生殖工学開発室技師
小 倉 淳 郎	厚生労働省 国立感染症研究所獣医科学部実験動物開発室長
勝 木 元 也	岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研究所所長
野 瀬 俊 明	(株)三菱化学生命科学研究所 先端研究部門主任研究員
横 山 峯 介	(株)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)