

平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

事業名		革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト
研究開発課題名		遺伝子操作マーマセットの作製・世代短縮のための革新的胚操作技術の開発
機関名		国立大学法人東京大学
研究開発	所属 役職	大学院医学系研究科 教授
担当者	氏名	饗場 篤

2. 研究開発成果の内容

①ゲノム編集によるノックインマーマセットの作製技術の開発

CAMKIIA および *GAD1* 遺伝子に加えて、Safe harbor として知られている *AAVS1* 遺伝子座へのノックインを目指して研究開発を行った。*AAVS1* 遺伝子座に対する platinum TALEN および CRISPR/Cas の設計・作製を行い、培養細胞に導入した結果、いずれも DNA 二重鎖切断を引き起こすことを明らかにできた。

さらに *GAD1* CRISPR/Cas, *AAVS1* platinum TALEN をマーマセット受精卵にマイクロインジェクションしたところ、いずれもゲノム DNA に対して効率的に変異を導入することができた。このことから、これらのゲノム編集ツールはノックイン効率を上昇させるうえで有用であることが考えられた。また、コンディショナルに *GCaMP* および *RCaMP2* を発現可能なドナー DNA の設計および作製を行った。

②マーマセット受精卵の凍結保存技術の開発

マーマセット受精卵の作出を行うために、発生工学システムのセットアップを行った。性周期管理を行ったメス個体より未受精卵を採取し、オス個体より得た精子を用いて体外受精を行った。得られた受精卵は上記①のインジェクションに用いたため、平成 27 年度は凍結保存胚および割球除去胚の作製条件の決定には至らなかった。

③プロジェクトの総合的推進

ノックインマーマセット作製の技術開発にあたって、学校法人慶応義塾・岡野栄之教授および公益財団法人実験動物中央研究所・佐々木えりか部長兼センター長との密接な連携によって、技術面での情報交換および研究の加速を図った。