薬効・安全性評価ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
畑田　出穂（群馬大学　生体調節研究所　教授）

ゲノム、エピゲノム編集疾患モデル動物の作出支援－「KO・KIラット」

補助事業分担者（所属・職名）
金子　武人（大阪公立大学大学院獣医学研究科・教授）、中川　優貴（大阪公立大学大学院獣医学研究科・研究員）

概要

【支援】ラットは、マウスでは研究が難しい分野で極めて有用な実験動物である。マウスと比較して大型で手術など操作が容易であり、知能が高いため心血管疾患解析、行動解析、神経機能の解明などに用いられる。しかしながら、ゲノム編集ラットの支援をおこなっている機関はほとんどなく支援拡充が急務である。本事業は、補助事業分担者が開発したエレクトロポレーション法を用いたゲノム編集ラット作製法を活用し、ゲノム編集ラットの作製支援を行った。
【高度化】ラットはマウスと異なり胚移植に用いる偽妊娠雌を容易に購入できないため移植する胚の数を厳選し、自前で効率よく偽妊娠雌を生産する必要がある。そのために、エレクトロポレーションで胚へ導入した核酸を可視化し、確実に核酸が導入されている胚を厳選し移植するシステムと、我々が開発した音波振動を用いた人工偽妊娠誘起法を更に改良し装置として完成させることで偽妊娠雌を効率よく作製するシステムを開発し、迅速なラットゲノム編集系統供給システムを構築した。

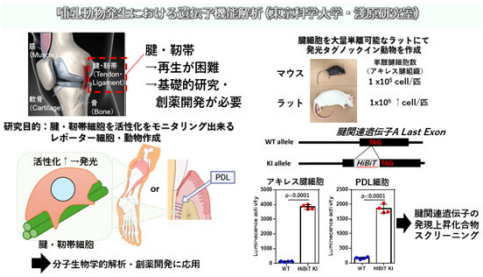
支援の内容

KO、KIラット作出支援
我々は、エレクトロポレーション法により受精卵へCRISPR/Cas9の核酸を導入し、従来のマイクロインジェクション法よりも短期間かつ高率にラットゲノム編集系統を作出する技術を開発し、これまで多くの支援を行ってきた。本提案ではこの技術を用いてKI、KOラットを迅速に供給し、年間3件の支援を行う。

支援の成果

事業期間中、各年度3件の依頼があり、ラット作製支援を行った。
2022年度　KO：2件、KI：1件
2023年度　KI：2件、Tg：1件
2024年度　KO：2件、Tg：1件
2025年度　KO：1件、KI：2件
2026年度　KO：2件（申請準備中）
　　KI：1件
年間3件の支援を計画通り実施している

一部の系統は当研究室で精子保存を行い遺伝資源として保存

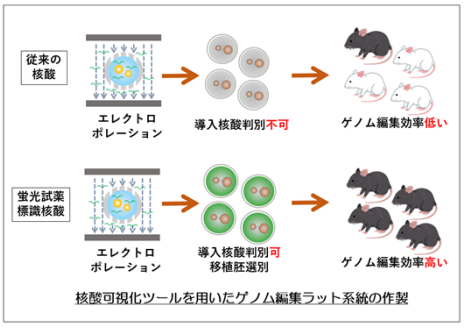


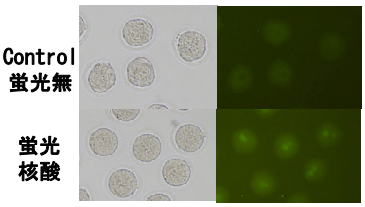
ユニット間連携の成果
浅原弘嗣先生、松島隆英先生（東京科学大学）
KIラットの作製支援を行った（2022、2023年度実施）
腱・靭帯の再生・機能回復を促す新たな創薬開発に貢献

高度化における研究背景・目的

ラットでは、マウスと異なり胚移植に用いる偽妊娠雌を購入できないため移植する胚の数を厳選し、自前で効率よく偽妊娠雌を生産する必要がある。そこで本研究では、エレクトロポレーションにより胚へ導入した核酸を可視化し、確実に核酸が導入されている胚のみを選んで移植しゲノム編集個体作出の効率化を図る。また、胚を移植する偽妊娠雌は通常、精管結紮した雄との交尾刺激により作製する。安定した偽妊娠雌生産のためには十分な雌と精管結紮雄の飼育スペースを確保する必要があるが、偽妊娠誘起は、雄との交尾に依存するため必ずしも偽妊娠が誘起されるとは限らない。そこで偽妊娠雌生産の効率化が必要である。我々は、雄との交尾刺激を音波振動により人工的に再現し偽妊娠を誘起させる技術の開発に成功した（特許第7495680号、特許第7704344号）。本研究では、偽妊娠誘起を実用的な装置として完成させる。また導入可視化ツールと組合わせ、迅速なゲノム編集ラット系統の供給システムを確立し支援に供する。

高度化の成果





ラット胚内での蛍光を確認した
ラット胚内での導入核酸の選別可能
胚発生に影響なし



ラット偽妊娠誘起装置の開発・販売
（マウス用も開発・販売）



ラット生殖技術研修会の開催

＊補助事業分担者（金子）が開発した、偽妊娠ラット作製器具はマウス用とともに特許実施許諾契約に基づき、株式会社夏目製作所で製造販売を行っている。

今後の発展

【支援】ラットは、医学・創薬研究に有用な実験動物であり、ゲノム編集による新規疾患モデル系統の作製が可能である。しかしながら、生殖技術習得の整備が不十分であるため、ゲノム編集ラットの支援をおこなっている機関はほとんどないのが現状である。本事業の支援により、医学・創薬研究に有用なラット系統の作製支援が実施できたことで、ゲノム編集ラットを用いた研究成果が期待される。今後も継続的なゲノム編集ラット作製支援業務を行うことで、医学・創薬研究のさらなる発展が期待される。
【高度化】本事業では、効率的なゲノム編集ラットの作製を目的として、エレクトロポレーションで胚へ導入した核酸を可視化し、胚移植に用いる胚を選別する方法の開発に成功した。また、偽妊娠雌を容易に購入できないラットにおいて、精管結紮雄を用いずに音波振動により効率的に偽妊娠雌を自家生産できる方法の開発に成功した。これにより、高効率で迅速なラットゲノム編集系統供給システムを構築することに成功した。今後は、本プロトコールを国内外に広く普及させることでゲノム編集ラットを用いた医学・創薬研究の加速化が期待される。