

研究区分	一般共同研究	
研究課題	<i>In vivo</i> エレクトロポレーションを用いたハダカデバネズミ脳への遺伝子導入技術の確立ならびに発癌モデルの構築	
新規・継続の別	継続	
研究代表者	所属	慶應義塾大学 医学部 先端医科学研究所 遺伝子制御研究部門
	職名・氏名	訪問研究員・大西伸幸
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	北海道大学 遺伝子病制御研究所
	職名・氏名	准教授・三浦恭子
	所属	北海道大学 遺伝子病制御研究所
	職名・氏名	大学院生・藤岡周助
受け入れ教員	職名・氏名	准教授・三浦恭子
研究目的 (300 字程度)	<p>ハダカデバネズミは、癌化耐性を持つ著しい長寿命齧歯類であり、その癌化・老化耐性の分子メカニズムに注目が集まっている。ハダカデバネズミの未知なる性状を理解し、癌化・老化耐性の分子メカニズムを明らかにするためには発癌モデルの構築が必須である。申請者はこれまでにマウス脳より神経幹細胞を樹立し、癌遺伝子導入後にマウス脳への移植を行う <i>ex vivo</i> 脳腫瘍モデルの構築ならびに解析より、ヒト悪性脳腫瘍に酷似した特徴を有するマウス脳腫瘍を短期間に 100% の確率で作製することに成功している。また、申請者はマウス脳への直接遺伝子導入による発癌モデルの構築も進めていることから、本申請研究では、マウス脳腫瘍モデルを応用し、ハダカデバネズミ脳に <i>in vivo</i> エレクトロポレーションを用いて遺伝子を直接導入する技術の確立ならびに脳腫瘍モデルの構築を目的とする。</p>	
研究内容・成果 (1000 字程度)	<p>2017 年 11 月 14 日～16 日に研究分担者の研究室に滞在し、マウス脳への直接遺伝子導入による発癌モデルの構築についてプレゼンテーションならびにディスカッションを行った。</p> <p>また、ハダカデバネズミ個体における脳腫瘍モデルを構築することを目的に、予備実験としてマウス脳への <i>in vivo</i> エレクトロポレーション法の技術指導を研究分担者に行った(図 1)。</p> <p>マウス脳室内にガラスキャピラリーにて GFP 発現ベクターを注入し、PBS 緩衝液で湿らせたピンセット型電極で下顎と注入部位を挟み、エレクトロポレーションを行った。翌日、遺伝子導入したマウス脳より切片を作成し、蛍光顕微鏡観察したところ、GFP の発</p>	

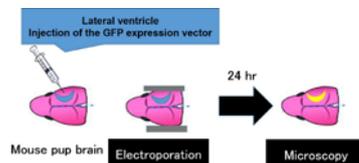


図 1. マウス脳への *in vivo* エレクトロポレーション法

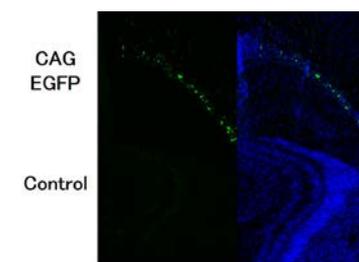


図 2. マウス脳切片における GFP 発現確認 (n=10)

現を確認することができた(図 2)。また、2018 年 2 月 9 日～12 日に研究分担者の研究室に滞在し、進めていた脳腫瘍モデル用プラスミド構築のデザイン相談ならびにトラブルシューティングを行った。マウス正常神経幹細胞を発がんさせるために普段はヒト/マウスがん遺伝子とマウスがん抑制遺伝子 shRNA の挿入を行うが、ハダカデバネズミにも適応できるように後者をがん抑制遺伝子産物 p53 と Rb に結合して不活化する SV40 T 抗原(LT)に変更してプラスミド構築を行った(図 3)。具体的には LT とがん遺伝子 RAS 活性型配列を P2A 配列で繋ぎ、両者を一度に発現させるデザインにしている。現在は完成した本プラスミドを用いてマウス脳に遺伝子導入しつつ、ハダカデバネズミ個体を準備中である。個体準備が貴重なハダカデバネズミでの遺伝子導入を潤滑に行うために、新生児ハダカデバネズミ脳の切片を作成し、脳内構造についての確認も行っている(図 4)。今後、マスとハダカデバネズミの両方で遺伝子導入後の経過観察を行い、発がんの違いや、腫瘍形成が確認された場合は腫瘍の大きさや形成時間・組織型の違いなどについて詳細に解析を行う予定である。

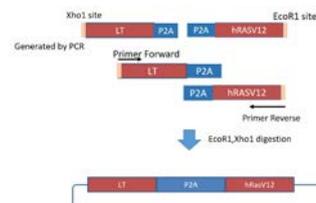


図 3. 発がんモデルのためのプラスミド構築デザイン

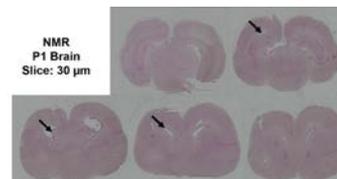


図 4. ハダカデバネズミ(NMR)の脳切片

成果	【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと 該当なし
	【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと 該当なし
	【新聞報道】 該当なし