

## 組み換えゲノムクローン技術を利用したセミノックイン動物の作出

塩田 明、倉持 隆、水野公博、青柳一樹、青砥利裕、○上田正次  
(株式会社ワイエス研究所)

シンプルな発現ベクター利用するコンベンショナルなトランスジェニック (Tg) 動物による遺伝子解析手法は、長い歴史とともに技術的に成熟しており、いまでもなお汎用される一般的な方法である。しかしながら、導入された遺伝子発現の忠実さにばらつきが避けられないため、実験結果の評価が困難になる場合が多い。一方、遺伝子ターゲティングを利用するノックインマウスは、導入遺伝子の発現制御が忠実であるため、病態モデルの作出や、レポーター遺伝子による疾患関連遺伝子の発現解析を正確に行うことができる。しかしながら、ノックインマウス作出は技術的には十分に確立されているものの、その作出には1.5~2年を要し、さらにコンジェニック化が必要とされる場合が多いため、その利用は大きく制限されていた。

われわれは、Tg 動物作出のスピード感を維持しつつ、発現制御の忠実性の問題を解決するために、200 kb にもおよぶ BAC クローンを直接組換えて Tg 動物を作出する、『セミノックインストラテジー』を考案した。

GeneBridges 社により開発された Red/ET テクノロジーを利用して、アディポネクチン遺伝子座にルシフェラーゼカセットを挿入したゲノムクローンを構築した。精子ベクター法により、この発現ベクターが導入されたセミノックインマウスを作出して、アディポネクチン遺伝子座の発現をレポーターアッセイにより定量した。その結果、アディポネクチンが発現しない組織には全くルシフェラーゼ活性が検出されなかったのに対して、アディポネクチンの分泌組織である内蔵脂肪組織には強力なルシフェラーゼ活性が確認された。さらに、ルシフェラーゼの基質を投与してその発光を CCD カメラで捉えることにより、生体のままアディポネクチンの発現を観察できることが明らかになった。

この結果から、組換えゲノムクローンを導入して作出されたセミノックインマウスが、内在性の遺伝子と同様の発現制御で外来遺伝子の発現を忠実に再現できることが示された。本技術を用いることで今後、様々なバイオマーカーの発現を *in vivo* で迅速、確実、定量的に測定できるモデル動物を作出していきたいと考えている。