
研究（事業）計画書

（第53期）

自平成21年4月1日
至平成22年3月31日

財団法人 実験動物中央研究所

目 次

平成21年度研究計画の概要

I. プロジェクト研究

1. ヒト化マウスプロジェクト..... 1
2. 実験動物開発のための新技術プロジェクト..... 2
3. マーモセットによるヒト疾患モデル研究・開発プロジェクト 3
4. プリオン病モデルの開発と応用プロジェクト..... 5
5. 実験動物のフェノタイプ解析プロジェクト..... 5
6. 先端的実験動物研究手法樹立プロジェクト..... 6

II 研究部門

- A. 実験動物研究部 7
 1. 飼育技術研究室 7
 2. 動物医学研究室 7
 3. 遺伝モニタリング研究室..... 7
 4. 実験動物遺伝育種研究室..... 8
 5. 免疫研究室 8
 6. 遺伝子改変研究室 8
 7. 生殖工学研究室..... 8
- B. マーモセット研究部 9
 1. 疾患モデル研究室 9
 2. 応用発生生物研究室 10
- C. バイオメディカル研究部..... 10
 1. 腫瘍資源研究室 10
 2. 分子解析研究室 10
- D. 病理病態研究部 11
 1. 画像解析研究室 11
 2. 分子形態研究室 11
 3. ヒト化動物研究室 12

Ⅲ. 研究事業部門

A. 試験サービス事業部	13
1. ICLAS モニタリングセンター/モニタリング事業室.....	13
2. 動物試験事業室	15
B. 動物資源管理部	16
1. 資源管理事業室	16
2. 維持生産管理室	16
3. 生殖工学事業室	17

Ⅳ. 教育等プログラム

A. 教育活動事業部	18
B. 公的普及活動	18
C. コンプライアンス活動	18

平成 21 年度研究計画の概要

—実中研の目標—

現代科学の中心の一つである生命科学は近年目覚ましい発展を遂げ、生体の働きは分子レベルで詳細に解析されるようになった。しかし、個体として整合性を持った生体機能のメカニズム解明には程遠いものがある。最も単純な生命単位である大腸菌ですら人の手で合成できない現状がこれを物語っている。

複雑系であるヒトや動物の機能を解明する科学領域を私は仮に「インビボサイエンス In-vivo Science」と名付け、これこそが生命科学の重要な使命であると考えている。生命科学を人間の健康と福祉を推し進める上にこの領域はきわめて重要である。

—研究の基本方針—

当研究所ではインビボサイエンスの基盤となる実験動物の作出、モデル動物の開発・研究、さらには医学や創薬のための動物実験システムの確立を使命としている。

創立以来の活動を簡単に述べると、第一期は実験動物の品質・規格の確立に重点をおき、わが国に近代的な実験動物の普及を計り、実験動物の質の向上に寄与した。第二期はモデル動物の作出に重点を置き、それぞれの研究目的に対応する実験動物を開発して大学・研究機関や企業に供給した。第三期は品質・規格が統御された実験動物を用いて、精密な動物実験系すなわち *in vivo* の物差しとしての実験・評価系を世界に提供してきた。その結果、ポリオワクチンの神経毒性検定系としての「ポリオマウス試験」が WHO により、また、医薬品の短期がん原性試験における *rasH2* マウスが FDA から国際スタンダードとして認められるに至った。

これら三つの発展段階を通じてそれを支えた基盤技術は無菌動物技術とモニタリング技術である。信頼性ある動物実験系はこれら基盤技術の上に、統御された実験環境と精密な評価方法が一体となったシステムであり、ヒトに還元可能な再現性ある研究結果と試験成績を保証するものである。

—今年度の研究計画—

1) 基盤技術の強化

実験動物と動物実験の品質を支える基盤技術とそれを検証するモニタリング技術を一層強化するため基盤技術研究所を設けて、新しく開発された実験動物がバイメヂカルサイエンスのために真価を発揮する支援体制を確立する。この技術は文科省の特定奨励費によって長年補助されてきたものであり、生命科学の地味な土台を支える貴重な支援によって、日本の動物実験水準が維持されてきたことに深く感謝するものである。

2) ヒト化マウス

当研究所が開発したヒトの正常細胞・組織が生着する *NOG* マウスは実験動物の世界に大きな衝撃を与えた。平成 19 年、実中研は「First International

Workshop on Humanized Mouse」を主催し、本年4月アムステルダムで第2回が開催されることになった。実中研はヒト組織の受容性の改良をさらに進めているが、「ヒト化マウス」系を用いた研究は日本を中心に大きく発展し、血液・免疫細胞を始めとして、AIDSなどヒト特異感染症、腫瘍、肝臓などの移植に幅広く用いられており、われわれも肝臓中心に実用化を進める。

3) コモンマーモセット

当研究所が40年間維持し、実験動物化してきた繁殖効率が高い小型霊長類で、遺伝子改変を含む発生工学技術の確立に向けた研究を進める。20年度発足した文科省脳科学研究推進プログラムで新しいモデルマーモセット開発を実研が中心に行う。

4) 実験動物解析方法の開発

生体機能開発方法は画像、代謝、ゲノムなど様々の面で急速に進歩しており、MRIなどの画像、メタボローム解析など代謝、蛋白質質量分析、ゲノム解析等の実験動物解析方法の開発を進める。本研究は大学、企業の研究所などとの共同研究で進め、リアルタイムでの機能解析により情報精度の向上とともに、非侵襲的方法により動物愛護の増進を目指す。

—研究体制の整備ならびに大学院の連携化—

従来の慶大医学部に加え、東北大学全学との連携協定が締結され、順天堂大学とも連携し、研究、教育、特に大学院レベルの交流を積極的に行う。

—COE プログラム—

21年度は慶応義塾 Global COE Program のうち二つと一体となって研究教育拠点形成を行い、人材交流、共同研究ならびに大学院レベルの教育を行う。

—動物実験ならびに実験動物のための人材養成と教育活動—

20年度に発足した大学院修士課程における動物実験医学の教育を慶応義塾大学と共同で実施する。また、20年度まで振興調整費で行われた動物実験医学研究の支援者育成を大学と協力し、自主プログラムとして継続、発展させる。

なお、上記の教育活動と平行して、各省庁の動物実験指針と日本学術会議動物実験ガイドラインの適正な実施に向けた普及・啓発活動を行う。

平成21年3月31日
所長 野村 達次

I.プロジェクト研究

プロジェクト研究は実験動物を用いて生命科学の多様な問題を解決するために緊急かつ重要なテーマを取り上げ、関連部門、研究室が密接に協力して研究を進めることに特色がある。プロジェクト研究の目標は人の健康問題を解決するために有用なモデル動物を開発し、それを用いた画期的な *in vivo* 実験系を確立すること、そのための基盤ならびに周辺技術を確立することに主眼を置いている。本プロジェクトには当財団の設立目的に沿って、過去半世紀に確立した実験動物基盤技術に立って展開されたポストゲノム時代の多様な基礎、臨床、トランスレーショナル研究、創薬ならびに *in vivo* 試験系の開発を含むテーマが含まれている。

1. ヒト化マウスプロジェクト

当研究所で開発した NOG (NOD/Shi-scid, IL-2R γ KO) マウスは従来の免疫不全マウスと比較し、ヒト腫瘍のように増殖力が強い異種細胞のみでなく、正常のヒト幹細胞が生着し、成熟細胞に分化し、増殖することが可能な新規動物である。ヒト細胞をもつ「ヒト化マウス」の研究は、世界的に注目されている動物モデルであり、これを受けて2009年4月に東京で「第1回ヒト化マウスワークショップ」を主催した。今年2009年4月にアムステルダムで第2回ワークショップが開催される予定である。

当研究所はこの NOG マウスを改良すること、また NOG マウスを用いて従来不可能であったヒト化 *in vivo* 実験系を確立することで、試験研究上、画期的なモデル動物を作出する。

1) 新たな免疫不全マウスの作製と応用に関する研究

本研究の目的は、再生治療モデルや感染症を含む各種ヒト疾患モデルの作製のために、異種細胞・組織の生着・分化・増殖に優れた受容体マウスを作製することである。全体研究計画としては、昨年度同様に当研究所で開発した NOG マウスを含む免疫不全マウスに新たな免疫不全遺伝子やヒト遺伝子を導入することでその改良を行う研究を継続する。実際には、①ヒト幹細胞が長期にわたり NOG マウスで維持されるための、幹細胞生着・増殖促進ヒト遺伝子を導入したトランスジェニック NOG マウスの作出、②ヒト免疫系の完全構築を行うための、マウス MHC (Class I および II) 欠損 NOG マウスの作製およびヒト MHC 発現 NOG マウスの作製、③異種細胞をより高度に生着するマウスを目指し、樹状細胞等のマウス先天性免疫に係わる各種細胞を欠損する NOG マウスの作製である。これらマウスを作製するために、High speed congenic 法、各種遺伝子改変法を駆使して行う。作出したマウスの有用性を外部研究者とともに様々な観点から検討する。

2) ヒト血液系細胞 *in vivo* モデルの作製

ヒト骨髄血液系は、NOG マウスで高率置換に成功したが、免疫系では NK 細胞、骨髄系では血小板のヒト化に成功している。造血幹細胞移植後の NOG マウスでは、リンパ球は T、B 細胞ともに分化するが、T、B 細胞の相互作用は未だ不十分なところもあり、また、サブセットの解析も不十分である。今後は置換率向上を目指すとともに、分化細胞機能の正常化を目指す。これら研究は、上記の新しい免疫不全マウスの作製と応用に連動して行う。

3) ヒト肝 *in vivo* モデルの作製

免疫不全 NOG マウスを基盤とし、肝特異的に任意の時期にマウス肝細胞を破壊する新たな Conditional Tg マウスとして TK-NOG マウスを、また、恒常的にマウス肝細胞が崩壊する新たな Constitutive Tg マウスとして uPA-NOG マウスを作製した。両系統ともヒト正常肝細胞の生着性が優れており、Hu-liver mouse としての有用性検討を着手する。ヒト型代謝モデルとしての可能性を検証するため、化合物を投与し薬物の血中濃度推移、すなわち薬物動態解析を実施する。

4) ヒト腫瘍 *in vivo* モデルの作製

NK 活性を欠く NOG マウスを受容動物として用いると、従来に比べて遥かに少ない僅か 10 個のヒト癌の造腫瘍性検出が可能である。更にこのマウスでは定量的な微量肝転移モデルが作製できるので、これを用いて抗腫瘍薬物の転移抑制作用評価系を作製する。これらヒト腫瘍 *In vivo* モデルを用いて、転移メカニズムを cDNA アレイ、プロテオーム、メタボローム解析によって進める。同時に腫瘍幹細胞の実体解明を進め、免疫不全マウスへの難移植腫瘍である白血病・リンパ胞、乳癌、前立腺癌等のモデル作製を目指す。

2. 実験動物開発のための新技術プロジェクト

1) 新たな遺伝子改変法の開発に関する研究

本研究の目的は、新たな遺伝子改変動物作製のための新たな幹細胞の樹立やそれに関連する手法を開発し、従来困難とされていた動物系統や種での遺伝子改変を可能とすること、そして新たなバイオリソースを提供することにある。そのために、①各種近交系または突然変異マウス由来 ES 細胞の樹立と新しい生殖系列への伝達法の検討、②生殖系列に伝達しない ES 細胞を高率に生殖系列に伝達させる方法の開発、③ES 細胞に替わる全能性幹細胞の樹立とそれを用いた遺伝子相同組換え法の検討、④組織、細胞を欠損させる遺伝子改変法および動物の開発、また⑤ヒト疾患モデルとして、ウェルナー症候群動物モデルを作製する。

2) 環境保全のための遺伝子改変動物制御に関する研究

本研究は、遺伝子改変マウスが野外への逸走防止、および仮に逸走した場合でも環境の保全を担保する方法論を確立するために行う。方法論として、遺伝子組換え動物が野外に逸走した場合でも、繁殖不能、または早期に死亡する動物の開発を採用する。既にヒトと齧歯目動物に共通してみられる高プロラクチン血症による繁殖不全を利用した遺伝子改変動物の野外での繁殖阻止系を樹立した。しかしながら、高プロラクチン血症は内分泌に影響するため、これに関わる遺伝子改変マウスには不向きである。その欠点を補うため、現在、精子受精時の初期胚の融合に関与する Izumo 遺伝子に関して short hairpin RNA を用いたコンディショナルノックダウンマウスを開発する。さらに、代謝酵素制御等の検討も加え、遺伝子改変動物による逸走後の繁殖阻止のための動物系統の樹立を目指す。

3) 電磁場凍結を用いたほ乳類生体試料の新規保存方法の研究

ほ乳類の細胞や組織および臓器を、電磁場を用いて生きたまま保存する方法の構築を目指す。既存の生体試料の保存方法では、耐凍剤の化学的毒性、保存後の細胞の生存や形質を保つ点で必ずしも有効ではない。また保存対象によっては確実な保

存法が存在しない場合もある。電磁場を用いると細胞内外の氷晶形成を阻害しつつ冷却が可能なが示唆されている。実際に食材では短期～中期間保存する方法として電磁場の利用は始まっている。しかし、保存後の細胞内のタンパクや酵素等の活性等については未確認であり、細胞の形質が保てるかは不明である。そのために、本方法で保存した細胞の生命現象の確認を行い、また細胞や組織および臓器の保存条件の検討を行う。詳細はⅡ-生殖工学研究室を参照。

4) 実験動物リソースバンクの構築

In vivo 実験に必要な動物の品質を管理するためには、胚・配偶子・ES 細胞等を用いた系統保存や実験材料の作製に関する技術が極めて重要になる。そのため生殖細胞の採取、保存、個体復元および提供に関する生殖工学技術の検討をおこなう。また開発した技術を実用化して、単一動物種の系統維持と系統分与に限定せず、品質管理されたヒト疾患モデル動物のタネおよび実験材料の収集、保存および供給をおこなう。

これらの検討結果を基に、マーモセット、ラットおよびマウスなどの複数の実験動物種を対象とした、品質規格を明瞭にしたヒト疾患モデル動物の国際的保存供給センターの確立を目指す。詳細はⅡ-生殖工学研究室およびⅢ-生殖工学事業室を参照。

5) 新規実験動物基盤技術の開発と応用に関する研究

当研究所で最も得意とする実験動物技術は、微生物統御を基盤とした遺伝、環境および栄養などの諸要因を統御した、均一性と再現性のある実験動物を提供するいわゆるノトバイオート技術である。本プロジェクトにおいては、このノトバイオート(ビニールアイソレーター)技術を基盤に置き、既存のビニールアイソレーターを見直すと共に、この技術を応用したノトバイオートおよび重度免疫不全動物の飼育実験のための、新しい飼育システムの開発を試みる。本年度はノトバイオート研究の基礎となる新しい系統の無菌化を図ると共に無菌マウスの一般性状を調査する。ビニールアイソレーター技術の開発改良としては、ノトバイオートや SPF マウスを飼育した場合のビニールアイソレーター内外の臭気(アンモニア)の軽減を目指した飼育方法、フィルターなどについて検討を加える。

3. マーモセットによるヒト疾患モデル研究・開発プロジェクト

真猿類の高次機能と高い繁殖効率をあわせ持つ実験用小型霊長類として実中研が開発を進めてきたコモンマーモセットについて、ヒト疾患モデル動物として有用な実験系を作製するため、発生工学による遺伝子改変動物の開発、抗体、cDNA などの解析ツールの開発、神経行動、MR 画像、病理的解析ならびに生産動物の規格化等に関し、多方向より総合的に検討するプロジェクトである。この研究開発は所内の各研究室ならびに事業部との協同で以下の6つのグループに分かれて実施される。本研究の一部は、文部省脳科学研究戦略推進プログラム(代表:生理研伊佐、分担:実中研佐々木)、JST さきがけ(実中研佐々木)、文科省 iPS 再生医療実現化プロジェクト(代表:慶應大岡野、分担:実中研伊藤豊志雄)、医薬品基盤研究費(代表:慶應大福田、分担:実中研伊藤豊志雄)および戦略的創造研究推進事業(慶應大岡野)の各研究補助金によって実施される。

1) 治療方法開発のためのモデル動物作出

(1) 脊髄損傷モデルの作出と治療法の検討

マーモセットにおける定量的脊髄損傷モデルを作製し、損傷局所に神経幹細胞や薬物を注入し、治療効果を評価する。

(2) 心筋梗塞や脳梗塞モデル作出と機能評価

外科的あるいは薬物処置によって上記病態動物を作出し、モデルとしての機能評価を行う。一部のモデルについては治療法を検討する。

(3) アレルギー疾患モデルの作出

スギ花粉による花粉症マーモセットの経過観察と花粉症マーモセット家系の作出を試みる。

(4) 肺高血圧症モデルの治療法の検討

薬物投与によって作出された肺高血圧症モデルを用い、遺伝子治療を試みる。

2) 生殖工学・遺伝子改変動物の開発と研究

遺伝子改変技術によるヒト疾患モデルマーモセット作出を目指す。そのために、未受精卵の採卵、体外受精、胚の体外培養、胚移植、受精卵・配偶子の凍結保存、核のリプログラミング機構の解明、ES細胞株もしくは精子幹細胞株等の発生工学研究に有用な幹細胞株の樹立と維持、特性検索ならびに分化誘導に関する研究などの発生工学技術の確立と向上に努める。これら技術を基礎として、トランスジェニックマーモセットやノックアウトマーモセットの作出に要する基本技術の確立に努める。

3) 効率的な霊長類胚性幹（ES）細胞の保存法の開発

マーモセット ES 細胞は保存が困難であり、維持には継続的な継代を余儀なくされる。マーモセット ES 細胞の高効率な保存技術を開発する。

4) 神経行動解析研究

MPTP 処置によるマーモセットのパーキンソン病モデルについて、行動学的、MRI 脳画像解析学的、神経学的解析を行い、当該モデルの特性把握を行う。MPTP 投与量に依存した症候発現とドーパミン神経破壊の関係、症候発現の個体差の要因ならびに症候についての自然回復の機序について解明する。

5) 解析ツール開発ならびに生体情報の収集・整備

マーモセットは真猿類としてげっ歯類に比べてヒトに近いゲノム塩基配列をもち、とくに高次機能や代謝パターンがよりヒトに近いなどの優れた特性を有するが、実験動物として利用するために必要な生体情報が充分得られておらず、機能の形態情報を得るための解析手段の開発が望まれている。

(1) ゲノム情報解析

ゲノム情報の解析はアメリカで開発されつつあるが、臓器別の遺伝子発現情報が病態モデルの解析には欠かせないので、脳脊髄、骨髄、免疫組織、肝臓等の主要臓器に加え、精巣、ES細胞における c-DNA ライブラリーを構築したが、今年度はさらに理研と協同して、超高速シクエンサーによるマーモセットゲノムの詳細解析を進める。

(2) 解析用抗体開発研究

マーモセットはヒトの CD 抗体や免疫グロブリンサブクラスの抗体と部分的

な交叉反応しか示さないため、血液免疫系の研究に欠かせないマーマセット CD シリーズ等の抗体を作製する。

(3) 形態情報整備

マーマセット脳定位座標アトラスの作成のため、3次元高分解能 MR 画像を取得する。アトラスの幅広い利用性を考慮し、任意断面の可視化法や異なる画像解析法との対応を検討する。MRI 脳定位座標に対応すべく新規に組織標本作製方法からの検討を行う必要がある。

また、functional MRI や PET を用いた脳機能計測では、計測画像の統計解析のため各データの空間的な標準化が必要である。現在そのテンプレートとして利用可能なマーマセット標準脳が求められている。脳アトラス作成時の MRI に対し、対象個体数を増やし電子ライブラリーとして利用可能なデータ整備を行う。

(4) 生化学・代謝情報

正常生化学情報のほかメタボローム解析を利用した異物代謝解析方法を確立して薬物代謝の基礎データを得る（慶大 末松教授らとの共同研究）。

6) 生産動物の規格化

集団の遺伝学的特性を把握し、改良点を見出す。コロニーの規格を構築し、その規格に対するモニタリングを実施する。（浜松医大 加藤らとの共同研究）。維持動物における健康上の問題点として下痢の発生がある。下痢の病態把握と感染性要因検索に努める（ICLAS モニタリングセンターとの共同研究）。

4. プリオン病モデルの開発と応用プロジェクト

本研究の目的は、感染性痴呆の原因である異常プリオンの感染性を短期間で評価できるシステムの確立ならびにそのシステムを用いた受託試験実施を視野に入れたものである。これまでの研究成果として、ノックイン (Ki) マウス 5 系統、トランスジェニック (Tg) マウス 11 系統、さらに Ki と Tg を交配した Ki・Tg マウス 7 系統のヒトおよびウシ型プリオン感受性マウスが作出され、順次感受性試験を実施している。感受性試験と併行して、受託試験に使用されることが予想されるプリオン感染材料の作製を実施し、ヒトの散発性 CJD と BSE 感染材料の作製・保存がなされている。本年度は、感受性試験を継続するとともに、ヒトの変異型 CJD を含む多種類のプリオン株の作製・保存を行う（動物医学研究室と動物資源開発部との共同研究）。

5. 実験動物のフェノタイプ解析プロジェクト

実験動物のフェノタイプ解析は、これまで行なってきた形態学的手法だけでは不十分であり、動物の病態把握と特性検索の新たな手段として、病理組織学的検査、臨床検査および腸内フローラ検査、さらには必要に応じ行動・運動特性検査を組み合わせた解析システムの確立が不可欠である。そこでまず NOG マウスを材料に、本システム確立のための検討を行なう。具体的には、昨年度終了した NOG マウスの長期飼育実験 (52 週間) の、各週齢における成長曲線、臨床生化学的データをまとめるとともに、病理組織学的データの解析を実施する。これらをまとめた NOG マウス基礎データ集を作成する。また無菌 NOG マウスが確立されたことから、それを用いた標準腸内フロー

ラ (AC stock) の定着・動態観察試験および下痢を呈した NOG マウスにおいて増殖が確認された SFB(セグメントバクテリア)の病原性の確認等の検討を継続する。このプロジェクトは試験サービス事業部の他、動物資源管理部、日本クレア(株)技術部および(株)テクノスルガ・ラボの協力を得て実施される。

6. 先端の実験動物研究手法樹立プロジェクト

生体機能ならびに構造解析技術の進歩は目覚しく、分子レベルの情報が生体のまま得られる時代に入りつつある。この目的で以下のプロジェクトが計画されている。

1) 実験動物の分子病理解析プロジェクト

当研究所にて確立した疾患モデル・病態モデルについてパラフィン標本の組織アレイ作製の確立を目指す。病因は異なるが病態が類似するモデル動物についてはタンパク発現の網羅的解析を行う。そのためヒト組織およびマウス組織に特異的な抗体についても検討を行う。本研究で得られるデータは、今後行う臍帯血移植および、現在進行中の Hu-Liver プロジェクトの評価において重要な基礎的データとなる。

免疫組織化学で得られる蛋白レベルの形態像ならびに *in situ hybridization* により得られる遺伝子発現を形態学的観点からマイクロ画像データを有効利用するための確立を行なう。

2) 実験動物の画像解析プロジェクト

本プロジェクトでは、実験動物の解析に特化した MRI 解析技術の開発を行う。特に神経病態モデルの開発、その治療を支援する評価法として、*in vivo* で神経走行や神経微細構造を可視化する画像解析技術の開発を行う。また、形態的に評価が困難な病態に対しては、機能情報を取得する functional MRI や代謝情報を取得する MR スペクトロスコピーの適用が考えられ、これら機能・代謝計測法の実現を目指す。

3) 多型解析による研究用動物・細胞の遺伝モニタリング

DNA 多型マーカーを PCR 及びキャピラリー電気泳動法で分析する手法を用い、以下の異なる研究用生物材料の遺伝モニタリング、または個体識別管理を行う方法を開発する。

- a. Closed colony rat (GALAS ラット) の集団遺伝学的遺伝モニタリング
- b. マウス系統背景遺伝子の高速ジェノタイピング
- c. マーモセットの多型マーカープロファイル (親子鑑定)
- d. 実中研が樹立したゼノグラフト株及びヒト腫瘍細胞培養株や、樹立された各種ヒト培養細胞の多型マーカープロファイル (ヒト個体識別)。

II 研究部門

A. 実験動物研究部

1. 飼育技術研究室

1) モデル動物作製システムの開発改良

糖尿病モデルマウスの系統育成；今年度も糖尿病モデルマウスの系統育成とその特性検索を2本柱にして研究を行う。系統育成は、db/db マウスおよびアディポネクチン欠損マウスを中心に、C57BL/6JJc1、DBA/2JJc1 およびBKS. Cgの3系統について、戻し交配を進める。また、既に C57BL/6JJc1 へ 8 世代以上の戻し交配が終了した IRS-2KO、Glucokinase(以下 Gck)-KO および IRS-1KO の3系統を複合化したマウスについて特性検索を継続する。IRS-2KO マウスは、よりヒトの臨床に直結した aP2-MCP1-Tg マウスとの複合化、すなわち IRS-2(KO/KO)、aP2-MCP1-Tg 複合マウスについては、インシュリンシグナルの解析を行う。Gck(KO/+), IRS-1(KO/KO) 複合マウスは、生後6週齢から20週齢までの体重、血糖、インシュリン濃度、摂食量など基礎データを得た後に、グルコースおよびインシュリン負荷試験に適した週齢を探る。本研究は文部科学省特定奨励費の一部として実施される。

2) ノトバイオート(ビニールアイソレーター)技術の開発改良

ビニールアイソレーターの改善：ビニールアイソレーターは、無菌動物を飼育するためだけではなくノトバイオート、SPF や感染動物を飼育することも多く、そのことによってアイソレーター毎の環境の違いが見られ、重度免疫不全マウスでは下痢や発育不良なども経験している。本研究は微生物統御を基盤とした遺伝、環境および栄養などの諸要因の統御に配慮した、均一性と再現性のある動物を提供する新しい飼育システムの開発を試みる。本年度は基礎となる新しい系統の無菌化を図ると共に一般性状を調査する。ビニールアイソレーター技術の開発改良としては、ノトバイオートや SPF マウスを飼育した場合のビニールアイソレーター内外のアンモニア臭の軽減を目指した飼育方法、DW-4, HEPA フィルターなどについて検討を加える。本研究は文部科学省特定奨励費の一部として実施される。

2. 動物医学研究室

プロジェクト研究として、当研究所で作製したヒトおよびウシ型プリオン感受性マウスの感染実験による感受性の評価を行う。本研究はプリオン病モデルの開発と応用を参照のこと。

3. 遺伝モニタリング研究室

1) ヘリコバクター病原遺伝子の探索

昨年度はルミネックスシステムを利用した *H. hepaticus* (Hh) の検出系を構築する目的で検出のターゲットを病原遺伝子ではなくあらかじめ反応することがわかっている 16SrRNA 遺伝子を用いた系の構築を行った。ルミネックスビーズにこれまで Hh 検出に用いてきた Hh 特異的 PCR プライマーを吸着させ、Hh, *H. bilis* および野外材料より抽出した他種ヘリコバクター属菌 DNA を反応させた。その結果、PCR で得られた特異性が得られず、ビーズに吸着させる DNA の配列の再検討または反応条件の

再検討が必要であると思われた。このほか gyrB 遺伝子をターゲットとした反応では期待される感度が得られなかった。この原因として本遺伝子の菌でのコピー数の低さが考えられた。本年度は、Hh を特異的、高感度に検出するためのターゲット遺伝子の検討および反応条件の検討を行う。

4. 実験動物遺伝育種研究室

本研究はマーマセットによるヒト疾患モデル研究・開発プロジェクト 6) を参照のこと。

5. 免疫研究室

1) 改良重度免疫不全 NOG マウスの有用性の検討

ヒト化マウスプロジェクトマウス（1 頁参照）の中心として、当研究室が各種マウスの作出を行う。この作出された各種改良免疫不全マウスでのヒト細胞の生着性を検討し、その有効性を判定する。

2) 異種細胞高生着性 NOG マウスの高生着性に関する基礎的研究

NOG マウスの異種細胞高生着性に関与する細胞系列または因子の検索を継続する。NOG マウスでは、従来の NOD-scid マウスに比べて、早期かつ重度な移植片対宿主反応 (GVHD) を引き起こす。これを利用して、NOD-scid マウスの細胞亜群を NOG マウスに移入して、その GVHD の強弱を比較することで、NOG の高生着性に関与する細胞亜群を同定する。

これら研究は、文科省基盤研究 S (代表者：伊藤守)、厚生労働省研究費 (代表者：琉大・田中教授) および文科省特定領域研究 (代表者：東北大・菅村教授) で行う。

6. 遺伝子改変研究室

1) 遺伝子改変法の開発と改良

本研究は実験動物開発のための新技術プロジェクト 1) 新たな遺伝子改変法の開発に関する研究を参照のこと。これらの研究は主に文科省特定奨励費「遺伝子改変動物に関する研究」で行う。

2) 遺伝子改変動物の野外での繁殖阻止に関する研究

本研究は同プロジェクトの 2) 環境保全のための遺伝子改変動物制御に関する研究を参照のこと。

7. 生殖工学研究室

哺乳類の生殖細胞、培養細胞、組織および臓器の収集・保存・個体復元・提供に関する方法の検討をおこなう。また、マウスやラットの遺伝子組換え動物の作製方法と周辺機器の開発をおこなう。本研究の一部は文科省特定奨励費「実験動物の保存と作製に関する研究」でおこなう。

1) ほ乳類生体試料の新しい保存方法の開発

電磁場を用いた哺乳類の生きた細胞、組織、臓器の保存法を検討する。試料を中長期保存するために冷却条件、保存液や容器の検討をおこなう。また実験材料はマウス、ラットおよびマーマセットなどの複数の動物種から採取する。

本年度は、蛋白などの細胞内物質を保護する方法と、電磁場による細胞内外の氷晶形成の阻害に対する効果を生きた細胞で確かめる方法を検討する。

2) 生殖工学基盤技術の開発改良

複数の実験動物種の胚、配偶子の生殖細胞およびES細胞やiPS細胞等の多能性幹細胞を対象として、以下の検討をおこなう。

- (1) 細胞、組織および臓器の採取法と保存法および培養法を検討する。また、個体還元法と出産後の蘇生法を検討する。
- (2) 保存した生殖細胞の提供方法を検討する。
- (3) 生殖工学事業室と連携してヒト疾患モデル動物の国際的保存供給センターのインフラ整備を行う。

3) 遺伝子組換え動物の作製と系統育成に関する新技術の検討

- (1) 胚や配偶子を加工や保存することで遺伝子改変の材料にする方法を検討する。
- (2) 個体の計画生産やバッククロス法を検討する。
- (3) 顕微操作の方法と関連機器の開発をおこなう。

B. マーモセット研究部

第51期から新体制でスタートしたマーモセット研究部においては、コモンマーモセットの繁殖・生産は行わず、マーモセットを用いたヒト疾患治療法開発のための各種ヒト疾患モデルの作出と実験手技の開発、遺伝子改変動物作出を目的とした発生・生殖工学関連技術の確立、さらにはマーモセットに使える各種抗体など解析手段の充実を図り、高次生物機能の総合的解析が可能な真猿類における実験動物としての有用性を確立することを目的としてきた。これらの成果を基に、生産供給を行っている日本クレア(株)に協力し、マーモセットの品質改良にも貢献する。

マーモセット研究部では、マーモセットの飼育管理、実験的病態作出ならびに実験補助を分担する疾患モデル研究室とマーモセットの発生・生殖工学の基礎研究を基に、遺伝子操作マーモセットの作出やiPS細胞樹立を分担する応用発生生物研究室の二つの研究室があり、両者が緊密な連携をとりながら運営される。

1. 疾患モデル研究室

1) コモンマーモセットの実験手技に関する検討

ヒト疾患モデルマーモセットを用いた治療試験において、麻酔方法の検討、薬剤の投与方法の確保や生体情報の収集は重要である。安定した麻酔状態を確保するための静脈内投与方法の確立、血管確保に関する技術開発、ならびにテレメトリーシステムなど各種生体情報モニター機器の利用法を検討する。

2) マーモセット飼育環境の改良

実験動物としてのサル類のRefinementへの取り組みは重要である。環境エンリッチメントの導入や行動解析に基づく動物アメニティ評価などを取り入れた飼育方法の改良を検討する。さらに、今後の利用拡大に不可欠な血清生化学値など正常値の掌握に努める。

3) 生物材料の提供などのサービスの実施

動物資源の有効活用の目的で、安楽死処分された動物について、各種生体材料(血液その他)の採取、提供を組織的に行う。さらに、動物飼育や実験手技の技術指導

なども行う。

4) 病態マーマーモセットを用いた薬効評価の試験の実施

疾患モデルマーマーモセットのうちパーキンソン病モデルを用いた認知機能測定法について確立する。

2. 応用発生生物研究室

コモンマーマーモセットの発生・生殖工学研究：マーマーモセットを用いた発生工学および生殖工学の基礎研究および応用研究として遺伝子改変マーマーモセット作出を行う。基礎研究としてはマーマーモセットの体外授精率、受精卵の発生率の高率化を目指した培養法の検討を行う。また、動物愛護を考慮して、動物に対して非侵襲的または低侵襲的に胚移植、未受精卵を採取する方法の検討を行う。さらに、標的遺伝子のノックアウト・ノックイン動物の作成を可能にする、キメラ個体形成を目指した ES 細胞、iPS 細胞、精子幹細胞等の発生工学研究に有用な幹細胞の樹立、さらには核移植における核のリプログラミング機構の解明などを行う。

遺伝子改変動物作成としては、慶應大学との共同研究でトランスジェニックによるパーキンソン病モデルマーマーモセット作出を行う。

C. バイオメディカル研究部

1. 腫瘍資源研究室

ヒト化マウスプロジェクトなどの当研究所の主要な研究課題のがん分野における研究に参画する。腫瘍の肝臓転移モデルの開発、同モデルの微小動態解析などの共同研究を実施する。また、転移の初期に起こる血管への浸潤モデルの開発を実施する。がん幹細胞を検出するバイオアッセイ系の確立を行う。きわめて少数（10 個）のがん細胞移植でも造腫瘍性を検出できる NOG マウスを用いた皮下移植系は、移植治療に用いられる細胞自身や他の生物材料の造腫瘍性検出（安全性評価）に有用と考えられ、モデルとしての有用性評価を実施する。

2. 分子解析研究室

ヒト化マウスプロジェクト（2 頁参照）の中心のひとつとして、当研究室が既存の遺伝子改変動物作出技術に加え、以下の技術を用いて NOG マウスの改良を行う。改良された NOG マウスでのヒト肝細胞の生着性を検討し、その有効性を評価する。

1) Hu-liver mouse の作製

免疫不全 NOG マウスを基盤とした 2 種類の肝傷害モデル、a) Conditional Tg マウス (TK-NOG)、2) Constitutive Tg マウス (uPA-NOG) を作製し、いずれの系統にもヒト正常肝細胞が高率に生着することを明らかにした。これらの成果をとりまとめ、「ヒト肝細胞が移植されたマウス」として特許出願した。また、Constitutive モデルである uPA-NOG マウスについてはその成果をとりまとめ論文発表した (Suemizu, H. *et al. Biochem Biophys Res Commun* **377**, 248-252 (2008))。本年度は Hu-liver mouse としての有用性を更に検討するため、両モデルについて網羅的ヒト型遺伝子発現解析、ヒト型メタボローム解析、ヒト型薬物動態解析に着手する。

2) マイクロサテライトマーカーによる遺伝子多型解析

マイクロサテライトマーカーは、その多型の多さから個体、あるいは系統の分類に有用である。従来のゲル電気泳動法では微細なサイズ差を判別することはできなかったが、キャピラリー電気泳動法の導入により僅か 1 bp の差を判別することが可能になった。この技術を以下の研究に応用する。

- a. 当研究所で樹立したゼノグラフト株や当研究所で使用している培養細胞株のマイクロサテライトマーカープロファイル作成
- b. クローズドコロニーラットの遺伝子モニタリング
- c. コンジェニックマウス作製時の遺伝背景置換の確認検査法の開発
- d. コモンマーマセットの遺伝子モニタリング、および親子判定法の開発

3) PCR による遺伝子検査法の開発・改良

さまざまな遺伝子操作動物が作られるようになり、飼育、繁殖の過程での遺伝子型検査が必須となっている。これに対応するため各種 PCR 検査法を開発改良する。

- a. 自然ミュータント動物やトランスジェニック、ジーンノックアウト動物の遺伝子型判定法やヘテロ接合性判定法の開発・改良
- b. トランスジェニック動物の導入遺伝子数の測定

4) トランスジェニック動物の導入遺伝子安定性に関する研究

トランスジェニック動物の導入遺伝子安定性をモニタリングする。サザンブロット法による検査を行い以下の研究を実施する。

- a. トランスジェニック動物の導入遺伝子安定性に関する研究
- b. 導入遺伝子の変異発生率および発生機構に関する研究

D. 病理病態研究部

1. 画像解析研究室

本研究室は、平成 16 年 3 月に設置された小動物用超高磁場磁気共鳴画像装置 Bruker Biospin 社製 PharmaScan 7T (以下、MRI) の適正な運用・管理、および本装置を利用した種々実験の実施を主な事業とする。平成 21 年度は引き続き、「実験動物の画像解析」という新しい分野における基盤を築きつつ、前年度の成果を下記のごとく種々の動物実験に応用する。

1) 神経微細構造の定量評価を目的とした形態的画像解析

神経走行を高精度に反映する拡散イメージング法を開発する。また神経軸索の脱髄、髄鞘化評価のための q-space imaging (QSI) 法を開発する。これら微細構造解析法をマーマセット脊髄損傷モデル適用し、病態の評価法としての有用性を検証する。

2) 神経病態モデルにおける機能・代謝障害の画像解析

形態学的に評価が困難な神経疾患モデルにおいては、その病態における機能・代謝障害の可視化法として functional MRI や MR スペクトロスコピーを適用する。その実現に向けて周辺技術である麻酔管理、専用保持台、刺激法の開発を行う。

2. 分子形態研究室

プロジェクト研究および共同研究に対応するため、実験動物およびモデル動物にお

ける形態学的解析方法の研究を行う。主として組織内における蛋白レベルでの解析方法として免疫組織化学染色を中心に検証する。in situ hybridization 法による分子病理学的解析に関連する基礎研究の手法を確立する。

1) 免疫組織化学システム

自動免疫染色装置を新たに導入し、実験動物における研究分野での有用性・実用性の検証を行いマウス組織、コモンマーモセット組織の免疫染色自動化への実用の検討を行う。とくに、ヒトに対する抗体を用いてコモンマーモセット組織での交差反応性の検証を行いデータの収集を行う。

2) In situ Hybridization システム

核酸レベルでの病理組織学的に解析方法の確立を行う。組織標本からレーザーキャプチャーマイクロダイセクションにより目的の細胞のみを抽出しDNAでの解析方法は確立したが、mRNA の解析に関しては固定・染色方法など検討項目の確立を目指す。また、microRNAの検出系・手法の確立を目指す。

3. ヒト化動物研究室

他の研究室と連携しながら、ヒトへの臨床応用に直結し得る真の「ヒト化」動物モデルの開発とそれに基づく病態生理の解析が当研究室に与えられた課題である。主にNOG マウスを用いたヒトがん細胞転移モデルにおける癌の進展の分子代謝学的特性を明らかにして新たな制癌治療戦略の開発につながる研究活動を展開する。具体的には、外因的要因である微小環境ストレスががんの進展にもたらす影響を、培養細胞系とその移入による生体内モデルとの組み合わせにより検討する。病理組織学的解析、フローサイトメトリー解析、遺伝子・タンパク発現解析等を行う。特に、微小環境ストレスに対するがん細胞の代謝適応は浸潤や転移を左右する重要な事象と考えられ、その解明は大きな課題の1つである。当研究室は慶應義塾大学医学部医化学教室との連携ラボであり、同教室のメタボローム解析チームの協力のもと、ヒトがん進展モデルをはじめとするヒト化NOG マウスモデルを駆使したヒト代謝システム生物学研究を展開する。また、同教室との共同研究として、バイオイメージングを用いて微小環境の動態をリアルタイムにモニタリングできる系の開発を進める。これらの研究活動の成果を積み上げながら、さらなるヒト化NOG マウスモデルの開発と応用をめざす。

Ⅲ. 研究事業部門

A. 試験サービス事業部

1. ICLASモニタリングセンター/モニタリング事業室

ICLAS モニタリングセンターの目的は、実験動物のモニタリングを通して国際的に実験動物の品質、動物実験の再現性、信頼性の向上および動物福祉に寄与しようとするものである。センターの主たる業務内容は、依頼検査の実施、検査技術の開発・改良ならびに品質管理の重要性の普及である。海外活動として、タイ国立実験動物センターと韓国科学技術院に ICLAS モニタリングサブセンターがあり、これらサブセンターにモニタリングキットなど標準物質の分与や研修生の受け入れなどを含む支援も行っている。詳細は下記の微生物・遺伝検査の計画書に記す。

〔微生物モニタリング〕

1) 微生物検査の実施

昨年度に引き続き、病気の診断あるいはモニタリングの目的で外部動物施設から持ち込まれた材料について感染症検査を実施する。その成績から、わが国での微生物汚染の現状を把握する。

2) モニタリング普及活動

モニタリング普及活動として、前年度に引き続き以下の事業を行なう。

- a. モニタリングに使用する抗原と抗血清の分与・配布
- b. 微生物モニタリングキット（モニライザ）等標準物質の頒布
- c. 研修生、実習生ならびに見学者の受け入れ
- d. 教育・講演・実技指導：日本実験動物学会のワークショップ「微生物モニタリング」の実施、日本実験動物協会と日本実験動物技術者協会での「微生物モニタリング」実技講習会の実施、東京大学農学部など大学等での「実験動物学」の講義・講演
- e. 海外協力：タイ国立実験動物センターの在る Mahidol 大学のアジア地区動物実験技術者トレーニングセンター事業への協力、タイおよび韓国 ICLAS モニタリングサブセンターへの支援、海外からの研修生受入れ
- f. 海外情報の収集：AALAS および日米科学技術協力事業実験動物委員会への出席 ICLAS 理事会への出席、その他国際会議への出席

3) 感染症検査技術の開発・改良

- a. 人獣共通感染症診断システムの確立：エキノコックス簡易診断キットは、昨年度実用化された。今後は、レプトスピラおよび Q 熱の診断システムの確立のための検討を継続し、4 類感染症診断のネットワーク作りを推進する（千葉科学大学、(社)北里研究所、日本獣医生命科学大学、わかもと製薬㈱、極東製薬㈱との共同研究)。
- b. 新たな抗体検査システムの検討：ELISA 法に替わる抗体検査法として蛍光マイクロビーズアレイを利用したルミネックスによるシステム樹立の検討を継続する。今年度は、昨年度反応条件を検討した抗原を用いた野外材料を用いた実証試験を実施し、実用化を目指す。（筑波大学との共同研究）

- c. 検査項目の充実ならびに ELISA や PCR システムの拡充:今年度は、K ウイルスの検査系の確立を目指す。また細胞・腫瘍のMAPテストの迅速化のために血清反応 I セットの検査項目のPCR化を図る。その他 PCR 法による検査可能項目を拡充する
- d. 電流型 DAN チップを用いた感染症診断システムの開発
東芝(株)が開発した本チップは、従来の蛍光型 DNA チップに比べ解析装置の小型化および自動化が可能である。そこで本チップを用いた実験動物感染症診断システムを確立する。これまでに Helicobacter 属の検査系が確立できおり、今後は MHV や他細菌の検出系の開発を実施する。(東芝(株)との共同研究)

4) 動物飼育システムの開発

NOG マウスのような超免疫不全動物が飼育可能な、高い飼育環境が維持できる新飼育装置開発に協力する。(動物資源開発部、飼育技術研究室、日本クレア、野村事務所、JAC との共同研究)。

5) NOG マウスの各種微生物に対する感受性の検討

重度な免疫不全である NOG マウスの、通常は病原性が極めて弱い日和見病原体感染の感受性に関する検討を継続する。この研究成果は、NOG マウスが一般的に使われるようになった時の飼育管理上の貴重な情報となるだけでなく、それぞれの感染症の理解にも役立つ。

6) マウス消化管内正常細菌叢モニタリングシステムの確立

これまでに、消化管内正常細菌叢モニタリングシステム樹立のための偏性嫌気性菌の培養技術を確立した。今年度は、分子生物学的手法である Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism(T-RFLP)法を導入し、培養と遺伝子検査を組み合わせたフローラモニタリングシステムの確立を目指す。また遠隔地からのフローラ検査に対応すべく、腸内フローラ専用の輸送培地の検討を実施する。このシステムの確立は、NOG マウス等のフローラ解析および機能性食品の効果試験の受託には不可欠である。

7) 広報活動

- a. ICLAS モニタリングセンターのホームページの管理・充実
- b. 第 56 回日本実験動物学会総会他へのブースの出展。

8) その他他研究機関との協力関係の継続

LCM ウイルスの抗原・抗血清の供給については長崎大学の長澤教授、ハンタウイルスについては北海道大学の有川二郎教授、パルボウイルスについては筑波大学の八神健一教授にそれぞれご協力をいただく。さらに、モニタリングセンターの現場の出先機関として、熊本大学動物資源開発研究センターの浦野徹教授にもご協力をいただく。他の共同研究機関として、理化学研究所 BRC がある。なお、本センターの活動の一部は、文部科学省特定奨励研究補助金および文部科学省がん特定研究補助金などの支援の下に実施されている。

〔遺伝モニタリング〕

1) 遺伝的モニタリングや遺伝検査の受託業務

先年度に引き続き、近交系やアウトブレッドのマウスおよびラットの遺伝的モニタリングを受託する。遺伝検査として、PCR法あるいはFISH法によるトランスジェニック動物の導入遺伝子の検査、実験動物由来細胞株の核型検査、スピードコンジェニック法に付随する遺伝的背景解析検査、間期核FISH法によるトランスジェニックマウス導入遺伝子のホモ・ヘテロ判定検査を受託する。

2) モニタリングの普及活動

- a. 遺伝的モニタリングキットならびに試薬の頒布
- b. 抗血清の分与
- c. 遺伝的モニタリングデータベースの管理
- d. 研修生、実習生ならびに見学者の受け入れ
- e. 教育・講演・実技指導
- f. 海外からの研修生受け入れや海外での実技指導
- g. 海外情報の収集を行う

3) 検査技術の開発・改良

- a. マイクロサテライトマーカーを用いた近交系検査法の確立：従来の生化学および免疫遺伝学的標識遺伝子マーカー検査データにマイクロサテライトマーカー検査データを加えて、データベースとして整理し、動物を生かしたまま検査できる本法の確立を目指す。
- b. 生化学標識遺伝子検査の条件設定を見直し：遺伝子マーカー検査の中で、判定が困難な複数の標識遺伝子検査の条件設定を見直す。具体的には、**実験動物遺伝育種研究室の協力を得て、泳動素材、泳動条件の見直しを実施する。**
- c. マウスやラット細胞の核型検査について、バンディングによる旧来法の充実ならびに新たな方法としてのM(マルチプレックス)-FISHを確立する。

4) 広報活動

- a. ICLAS モニタリングセンターのホームページの管理・充実
- b. 第56回日本実験動物学会総会へのブースの出席

なお、本センターの活動の一部は、文部科学省特定奨励研究補助金および文部科学省がん特定研究補助金などの支援の下に実施されている。

2. 動物試験事業室

1) 受託試験および腫瘍株の品質管理および分与

- a. 受託試験の継続：昨年度までと同様に、「ヒト悪性腫瘍／免疫不全動物系を用いた抗がん剤スクリーニング試験」、「免疫不全動物（特にNOGマウス）／ヒト細胞キメラ試験系を用いた薬効試験」および「rasH2マウスを用いた短期がん原性試験」など、実中研でなければ出来ない受託試験を継続して実施するとともに試験系の開発・改良を実施する。また無菌動物を用いた乳酸菌等機能性食品の評価試験の導入の可能性を探る。
- b. 腫瘍株の品質管理および分与業務：実中研の貴重な資源である腫瘍株の管理および分与業務を継続する。並行して分与可能株腫瘍株のリスト作成、補充

や検査を含む株の管理業務についても作業を進め、それらの腫瘍株リストをホームページ上で公開することにより社会ニーズに対応できる体制を確立する。

2) 検査技術の開発・改良

- a. rasH2 マウスの発がん感受性モニタリング：日本クレアおよび米国 Taconic 社の協力の元、両施設で生産している rasH2 マウスの発がん感受性モニタリングを実施する。
- b. 免疫不全マウスを用いた少数腫瘍細胞生着性の検討：免疫不全マウスに腫瘍細胞を移植して生着させる場合、一定数以上の腫瘍細胞を移植する必要があるが、NOG マウスではより少ない腫瘍細胞数で生着させることが可能である。本研究では移植部位を工夫することによって、少数細胞の生着性を安定化させ、実験系として利便性を高めることを目的とする。

B. 動物資源管理部

1. 資源管理事業室

- a. 各手順書及び器具機材の見直しを行い、作業効率と安全性を高め、経費の削減を図る。また施設の改修を進め、新規ヒト疾患モデルマウスの実験動物化推進の基盤を整備する。
- b. 維持生産管理室と生殖工学事業室と連携し、外部研究機関などに、速やかな情報提供を行う。
- c. 実験動物資源としてスunksの維持、その特性検査と共に生産方式について検討し、その実用化を図り糖尿病モデル動物 EDS 系統の育成繁殖を検討する。

2. 維持生産管理室

1) モデル動物作製システムの開発改良

- a. 免疫不全マウスの改良：ヒト化マウスプロジェクトにおいて作出される改良型 NOG マウスの動物実験化のための育成、繁殖法の検討を実験動物研究部・バイオメディカル研究部と共同で実施する（詳細はヒト化マウスプロジェクトの項参照）。本研究は文部科学省特定奨励費の一部として実施されている。
- b. 各種マウス、ラットを中心とする系統動物の育成・維持を継続すると共に、各プロジェクトに対応した小規模生産のシステム化をはかる。また系統特性に適合した生産方式についての検討を行う。生殖工学事業部と協力して、各種系統動物の維持方式を個体管理から凍結受精卵管理に切り替えるための、規格化されたペディグリー付き受精卵を作製する。また個体復元した際の特性検索法として、導入遺伝子解析や腸内フローラ解析を組み合わせた品質統御システムの構築を進める。（腸内フローラ解析についてはモニタリング事業室との共同作業）
- c. 外部研究機関への系統分与ならびに系統動物の微生物的清浄化（微生物クリーニング）および遺伝的純化（戻し交配等によるコンジェニック化）をはかり、実験動物としての改良・開発を継続する（生殖工学事業室との共同作業）。

- d. バイオバブルの検討：動物室改修後、バリア飼育室内にフリースタンディングタイプ bio Bubble を設置し、複合免疫不全マウスの長期飼育による繁殖性、発育および飼育環境などについて調査し、この装置の有用性と実用化を検討する。本研究は文部科学省特定奨励費の一部として実施されている。

2) 広報活動

- a. 実中研ホームページに業務案内を掲示する。
- b. 第 56 回日本実験動物学会総会へのブースの出展 (ICLAS ブースへの併設)

3) 教育研修

- a. 系統動物の維持および繁殖技術に関わる教育研修を行う。

3. 生殖工学事業室

- a. 所内外から依頼される実験動物の生殖細胞の保存をおこなう。
- b. 微生物クリーニング、個体復元、系統育成、個体の計画生産および実験材料の提供をおこなう。
- c. 所内外から依頼される遺伝子組換えマウスの作製をおこなう。
- d. 保存した生殖細胞の情報や依頼者の情報を電子化する。また生殖工学技術を施行して得られた情報を解析する。
- e. 生殖工学研究室と連携して、生殖工学技術および関連技術の開発・改良・導入をおこない、ヒト疾患モデル動物の国際的保存供給センターの運営や、組換え体作製に対する技術的な貢献を図る。
- f. 開発技術の発表や、生殖工学技術の教育・研修を通して技術の普及を推進する。また技術普及の必要に応じて研究開発した試薬や機器の頒布をおこなう。

IV. 教育等プログラム

A. 教育活動事業部

実中研の所内教育としては、総務部、研究室、センターおよび各委員会が必要に応じて個別に行ってきたが、「遺伝子組換え動物の取扱い」、「輸入動物の取扱い」など実験動物、動物実験を取り巻く環境が大きく変化しており、横の繋がりを持った適切な教育活動が必要になっている。また、所外へ向けた教育活動としては、維持会員や大学研究機関における所内研修への支援や、実験動物学会、技術者協会および日動協主催研修への支援、更に実中研においても平成 16 年度から AET(Animal Experimentation Technologist)セミナー、動物実験医学の研究支援者育成システムなどを開講しており、各々の研修内容やテキストの見直し、ならびにこれらの一体化とその環境づくりが求められている。

今年度は動物実験医学の研究支援者育成システムで養ってきた実技講習や動物実験医学講義などを AET セミナーに取り入れつつ、実中研の目標とする研究活動を効率良く達成するために実験動物、動物実験に関するコンセプトと技術の普及に努めていく。

B. 公的普及活動

研究所の設立目的の一つに実験動物、実験動物科学の普及がある。その中の公的普及活動計画を国内と国外に分けて説明する。

国内活動：職員が日本学術会議の暫定連携会員として ICLAS 分科会委員をはじめ、日本実験動物学会、日本実験動物技術者協会、日本実験動物協会の役員や委員、他研究機関の外部委員などを務めている。また、大学の客員教授としての講義、実験動物関連学協会におけるワークショップやセミナーの開催も行ってきた。さらに、国内の複数の実験動物関連リソースセンターなどと連携し、品質検査や系統の凍結保存を分担してきた。今年度もこれら活動を継続する。

国際活動：国際実験動物科学会議（ICLAS）の役員ならびに ICLAS モニタリングセンターとして実験動物の品質管理等での役割を果たす。特にモニタリングセンターは、タイと韓国にサブセンターがあり、研修生の受け入れ、講師の派遣、標準物質の配布などによって、それらの活動支援を継続する。

日米科学技術協力事業（実験動物科学）は日本側文部科学省研究振興局学術機関課、米国側 National Institutes of Health(NIH)が窓口になり、毎年 1 回、日米の実験動物研究者が一同に会し、実験動物の品質管理の話題を中心に過去 25 回意見交換を行ってきた。本事業は野村達次所長のコーディネートの下、会議が重ねられてきたが、昨年度以降一時休会となることが決まった。

C. コンプライアンス活動

“業務におけるコンプライアンス意識の浸透”を図ることを継続して行っている。

- 1) コンプライアンスセミナーを全職員対象に行う。
- 2) コンプライアンス担当責任者とともにも所の問題を受ける内部通報制度について、相談窓口のあり方を検討する。