

## ■研究課題名

### トランスジェニックニワトリ作製のための生殖工学的基礎研究

## ■研究の目的

本研究では、安全だが染色体への組込み効率の悪い化学的遺伝子導入法に、レトロウイルスの持つインテグレーション（宿主染色体への遺伝子挿入）機能を付与し、両者の長所を生かしたハイブリッドである「擬似ウイルス」を作製する。さらにこれを用いてトランスジェニックニワトリ作製にまつわる種々の問題を克服し、抗体など複数の遺伝子によりコードされる有用タンパク質を卵白へ生産させる新たな方法の実用化をはかることを最終目標とする。

## ■研究項目・実施体制（◎は研究を総括する者（研究代表者））

- ①レトロウイルスのDNAインテグレーションメカニズムに関する研究  
（◎飯島信司／名古屋大学大学院工学研究科）
- ②レトロウイルスサイレンシングメカニズムの解明  
（◎飯島信司／名古屋大学大学院工学研究科）
- ③擬似ウイルスの作製  
（三宅克英／名古屋大学大学院工学研究科）
- ④始原生殖細胞や受精卵の試験管内培養とトランスジェニックニワトリの作製  
（西島謙一／名古屋大学大学院工学研究科）



飯島信司

## ■研究の内容・主要な成果

- ①レトロウイルスインテグラーゼを用いて作製した擬似ウイルスは遺伝子導入された培養細胞の20-50％に遺伝子を挿入できた。
- ②レンチウイルスベクターを用いたトランスジェニックニワトリ作製法の基盤を確立した。
- ③擬似ウイルスをニワトリ始原生殖細胞に導入し、実用頻度でトランスジェニック後代を得られる可能性が高まった。
- ④ガラクトース転移酵素導入ニワトリにより目的タンパク質の活性発現に重要な糖鎖構造を改善した。

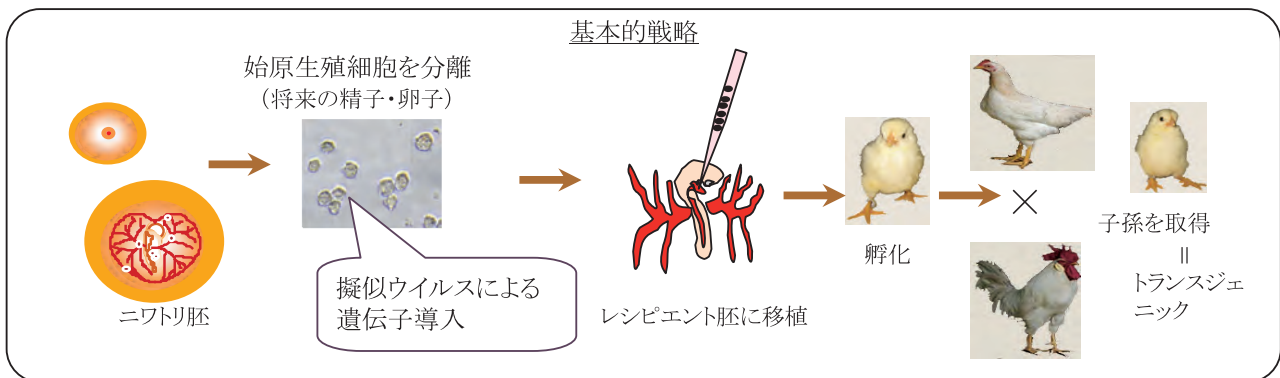
## ■今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①トランスジェニックニワトリによる医薬品生産技術の革新
- ②インフルエンザ耐性ニワトリの作製及び他の家畜の効率的育種
- ③病態モデル動物として有望なトランスジェニックマウス・ラット作製効率の飛躍的向上

## ■公表した主な特許・論文

- ①K Miyake, S Iijima *et al.* "Transcription factor YY1 interacts with retroviral integrases and facilitates integration of Moloney murine leukemia virus cDNA into the host chromosomes." *Journal of Virology*, 84, 8250-8261 (2010).
- ②K Miyake, S Iijima *et al.* "Differentiation-specific expression of chromatin remodeling factor BRM." *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 366, 827-839 (2008).
- ③K Nishijima, S Iijima *et al.* "Production of recombinant tumor necrosis factor receptor /Fc fusion protein by genetically manipulated chickens." *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105, 454-459 (2008).
- ④K Nishijima, S Iijima *et al.* "Production of transgenic chickens from purified primordial germ cells infected with a lentiviral vector." *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109, 315-321 (2010).
- ⑤2008-223490. "トランスジェニック鳥類及びその作製法、並びにタンパク質の生産法." 出願人：国立大学法人名古屋大学

## トランスジェニックニワトリ作製のための生殖工学的基礎研究



### ①擬似ウイルス法の開発

背景: 従来型遺伝子導入法の限界  
非生物法: 染色体組込効率が低い  
ウイルス法: 潜在的危険性

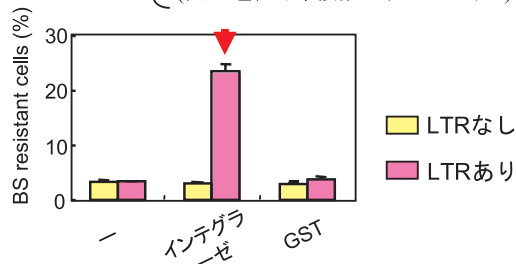
#### ○ インテグラーゼ + LTR

: レトロウイルスの最小構成要素?



メリット:

組込効率  
安全性  
導入遺伝子の自由度  
(長い遺伝子、複数の転写ユニット)



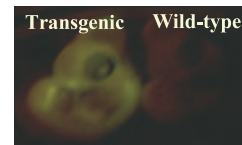
遺伝子導入された細胞の  
20-50%にインテグレーション

### ②トランスジェニック技術の開発

#### ○ 始原生殖細胞の利用

モデル系

: ウイルスベクターによるGFP発現ニワトリ



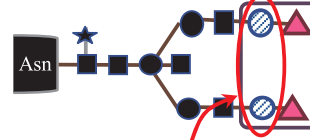
擬似ウイルス導入ニワトリ

: 導入効率の大幅上昇(期待頻度1.5%)

#### ○ 糖鎖制御技術 = 生産した医薬品の品質向上

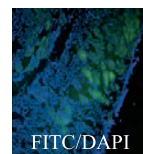
卵白タンパク質の弱点克服

糖鎖末端のガラクトース/シアル酸の欠損



ガラクトース転移酵素導入ニワトリによる改善

導入遺伝子発現  
(輸卵管)



卵白中の組換え一本鎖抗体/Fc  
タンパク質のガラクトース附加に成功



ガラクトース附加

生産医薬品の半減期延長・活性改善に期待

### ①安全・自在にトランスジェニックニワトリを作成するための基盤技術

{ ニワトリ卵への医薬品タンパク質の生産  
インフルエンザ耐性ニワトリなど

### ②他の家畜やモデル生物への応用

トランスジェニックマウス・ラット作製の効率化