

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：72611

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H02360

研究課題名(和文) 小型霊長類コモンマーモセットを用いたキメラ個体作出技術の開発

研究課題名(英文) Development of new methods for producing chimeric common marmosets

研究代表者

佐々木 えりか (Sasaki, Erika)

公益財団法人実験動物中央研究所・マーモセット医学生物学研究部・部長

研究者番号：70390739

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,600,000円

研究成果の概要(和文)：同種キメラ作製法の開発として効率的なドナーICM処理法を検討し、ライブセルイメージングによりドナーICMのホスト胚への生着を確認した。ヒトナীব型多能性幹細胞マーカーであるOCT4 distal enhancerと相補的な領域を用いてマーモセットOCT4 distal enhance レポーターES細胞を樹立し、ヒトナীব型多能性幹細胞と類似の形態を示すマーモセット多能性幹細胞樹立に成功した。更に、同種キメラ作製法を用いて、マーモセットナীব型多能性幹細胞を注入した胚盤胞をin vitroで観察可能な疑似着床後胚培養技術を用いることで作製キメラ胚の解析を実施した

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通じて、マーモセットnaive細胞の樹立、疑似着床後胚培養法、同種キメラ胚作製技術など多くの技術が開発された。これにより、非ヒト霊長類の初期発生の理解がより進むことが期待される。更にこれら研究技術を応用し、研究が発展することにより、習慣性流産や不育症などの原因究明に資すると期待される。

研究成果の概要(英文)：To produce allogenic ICM injected chimeric marmoset embryos, efficient processing method of ICM has been examined and contributions of the donor ICM cells into the host ICM have been observed by live cell imaging technic. OCT4 distal enhancer is known as a marker for human naive pluripotent stem cells. Therefore marmoset ES cells with reporter gene at homologous region to human OCT4 distal enhancer in marmoset were established. Using this ES cell line, marmoset primed ES cells were converted morphologically similar to human naive pluripotent stem cells. To analyze kinetics of chimeric marmoset embryos, a pseudo post-implantation embryo culture method that allows in vitro observation of post-implantation embryo development has been developed. Finally, using allogenic ICM transplanted chimeric embryo production method, marmoset naive ES cells were injected into marmoset host embryos and kinetics of the naive ES cells in the embryo was analyzed by pseudo post-implantation embryo culture.

研究分野：実験動物学

キーワード：マーモセット 幹細胞 初期胚 初期発生

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

霊長類の胚性幹(ES)細胞、人工多能性幹(iPS)細胞は、マウスと細胞学的性質が異なりキメラ動物を作出できない。そこで、小型霊長類の実験動物のコモンマーマセット(マーマセット)を用いて標的遺伝子ノックアウト、ノックインモデル動物作製を可能にする基盤技術を確認する。

### 2. 研究の目的

本研究では、マーマセット胚を用いたキメラ個体作製技術を確認することが最終目的であり、(1)効率良くマーマセットキメラ胚を作製する条件を探索すること、および(2)マーマセット胚から樹立した多能性幹細胞の維持シグナルを中心に研究を進め、前述の成果を融合させて(3)着床を模倣した体外培養法の開発を行い、ES細胞の注入によるキメラ胚の作製を行った。

### 3. 研究の方法

#### (1)効率的なマーマセットキメラ胚作製の条件検討

##### (1-1) GFP キメラ胚の作製

子宮内灌流法により非侵襲的に取得したマーマセットの胚を用いて GFP-transgenic マーマセット(GFP マーマセット)胚をドナーICM(inner cell mass)として、野生型(WT)胚をホストとして同種キメラを作製した。ICMは免疫手術法を用いて分離した。ホスト胚へのドナー細胞移植はマイクロマニピレーターを用いて、0.05% Trypsin EDTA でICMの細胞間接着を緩めることで細胞を分離し、ガラスピペットを用いてホスト胚に注入した。後期胚まで培養して、4%パラホルムアルデヒドで固定して(室温、1時間)免疫組織化学染色を行い、DAPI含有の封入剤を用いて胚を標本化して、GFPおよびNANOG陽性細胞数を確認した。

##### (1-2) ライブセル標識方法の条件検討

GFP マーマセット胚が潤沢にあるわけではないことから、WTの胚をCell Tracker(CT)で標識し、ドナーICMとして用いる条件検討を実施した。条件検討後、ライブセルイメージングを実施し、CTのシグナルを追跡することでhost胚へのドナーICMの細胞系譜を確認した。

##### (1-3) ドナーICMの細胞処理法の検討

キメラ胚作製後のドナー細胞の振る舞いをライブセルイメージで観察すると、ドナーICMがホスト細胞へ積極的に寄与する様子が伺えなかったことから、ドナーICMの細胞処理法の条件検討を実施した。改善法として、Ca・Mg不含培養液を用いてICMおよび割球を1分間処理したのちに塊、またはやや細胞接着が緩くなった状態でホスト胚に注入した。その際にレーザー穿孔法にてホスト胚の透明帯および細胞膜に穴を開けた。

#### (2) マーマセット胚から樹立した多能性幹細胞の維持シグナル解析

##### (2-1) プライム型多能性幹細胞における維持シグナル解析

マーマセット多能性幹細胞のシグナルを解析するために、マーマセット胚のICMからヒトの従来型ES細胞(プライム型ES細胞)と同一の培地(DMEM F12/20% KSR/FGF2培地)を用いてマーマセットES細胞を誘導した。

プライム型マーマセットES細胞は上記培地を用いてFeeder細胞上で維持した。また、マーマセット多能性幹細胞の未分化性維持に重要なシグナルを探索するために、Feeder-free培養条件に順化させたマーマセットES細胞を用いて解析を行った。Feeder-free培養時は、Accutase処理によって剥離したマーマセットES細胞から、feeder細胞を除去した後に、iMatrix-511コーティングを行なった培養dish上に播種し、5回以上継代を行なった細胞を使用した。また、培地はDMEM F12/20% KSR/FGF2培地をfeeder細胞上で1日培養を行った培養上清(MEFコンディション培地)を用い、培養前に再度FGF2を添加したものを使用した。

## (2-2) ナイーブ型マーマセツ多能性幹細胞の誘導

ヒト *OCT4* 遠位エンハンサーの配列と相同性の高い配列をクローニングし、レポータープラスミドを作成した(PB-cj*OCT4*-GIP-EN)。レポーター細胞の樹立を行うために、プラスミドを電気穿孔法によりトランスフェクションを行い、薬剤選択によりプラスミドが導入された ES 細胞の樹立を行なった。マーマセツ ES 細胞のナイーブ化は Guo et al., *Development* 2017 に示されている手法に従い行なった。

## (3)マーマセツキメラ胚の作製技術の開発

### (3-1)着床を模倣した体外培養法の開発

キメラ胚を作製した場合、すぐに胚を仮親に移植して発生後に胚胎を確認することが必要であるが、動物実験の 3R の方針のもと、*in vitro* で着床を模倣した体外培養法についてヒトで報告されている手法を応用して行なった。

### (3-2)ES 細胞の注入によるキメラ胚の作製

前項の開発を行なったことで、仮親への胚移植は行わずにドナー ICM の胚胎への寄与が *in vitro* で簡易的に確認できるため、2 種類のマーマセツ ES cell (Tet-on BCL2, Cira Reset) の注入を行なった。テトラサイクリン(Tet)依存性にアポトーシスを阻害する Tet-on BCL2 ES 細胞および(2-2)で誘導したナイーブ型マーマセツ多能性幹細胞 Cira Reset ES 細胞コロニーを培養ディッシュからガラスピペットで剥がし、PB1 培養液で洗浄したのちに Ca・Mg 不含培養液に 1 分浸し、レーザー穿孔法にて宿主胚に注入した。

## 4. 研究成果

### (1)効率的なマーマセツキメラ胚作製の条件検討

#### (1-1) GFP キメラ胚の作製

GFP キメラ胚をドナー ICM として、野生型(WT)宿主胚に ICM 注入を行なった。その結果、図 1 の通り細胞核と共局在する NANOG(+)シグナルが見られ、さらに NANOG(+)・GFP(+)の共局在が観察された。また、ドナー ICM の注入数を検討したところ、10 個以上注入した倍位に良好な GFP(+)細胞の生着が見られた(図 2)。しかしながら、NANOG(+)・GFP(+)の共局在細胞は多く得られなかった。

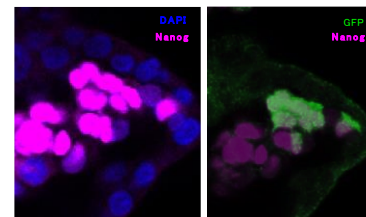


図 1. GFP キメラ胚の免疫組織化学

#### (1-2) ライブセル標識方法の条件検討

CT は生細胞を染めることが可能なことから、GFP マーマセツ胚の代用として使用できるか検討した。免疫手術前に CT 染色を実施すると ICM にベタつきが見られることから、免疫手術後に CT 染色を行い、宿主胚への注入を行うことで明瞭なドナー ICM の標識が可能となった (図 3)。

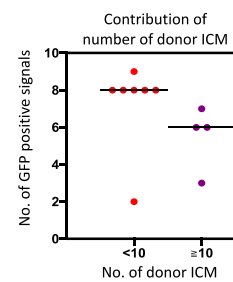


図 2. GFP 陽性細胞の宿主への寄与数

#### (1-3)ドナー ICM の細胞処理法の検討

GFPキメラ胚またはCTキメラ胚では、注入した標識細胞が発生を経ても一箇所に留まっている様子が観察された。また、ライブセルイメージングで観察すると、ドナー細胞の動きがないことから、死んでいる可能性も示唆された。

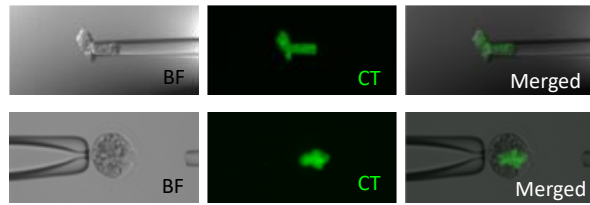


図 3. ドナー-ICM の Cell tracker 染色

従って、ドナー細胞の分離法を検討した。マウス ES 細胞などでは Trypsin を用いて細胞分離する

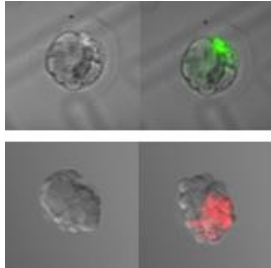


図 4. Trypsin 処理法 (上) と Ca・Mg 不含処理法 (下)

ことから、本法でも Trypsin を使用していたが、Trypsin は細胞接着因子を消化し、次に細胞膜表面に出現するのに時間がかかる。そのため、胚の中で迅速に細胞接着できずドナー-ICM が死んでしまう可能性を推測した。細胞接着因子をマイルドに弱める方法として Ca と Mg 濃度を低下させる方法がある。従って、Ca・Mg 不含培地を用いてドナー-ICM を処理したところ、Trypsin を用いて処理した場合と全く異なり、ドナー-ICM が注入した細胞の中で動く様子が観察された。また、Trypsin 処理で見られたドナー-ICM と宿主胚の境界も見られなくな

った (図 4)。

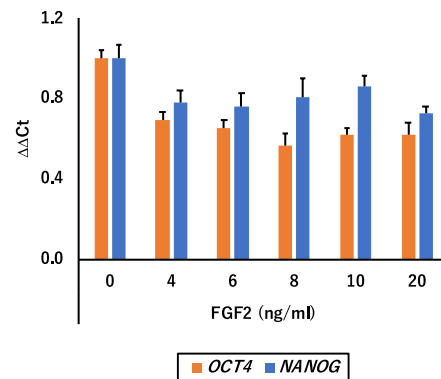
## (2) マーモセット胚から樹立した多能性幹細胞の維持シグナル解析

### (2-1) プライム型多能性幹細胞における維持シグナル解析

プライム型ヒト ES/iPS 細胞と同様の培地を用いて、マーモセット ES 細胞を樹立することに成功した。マーモセット ES 細胞の維持培地に含まれる FGF2 濃度を変更し培養を行なった後に、RNA を回収し、多能性幹細胞マーカーである *OCT4*, *NANOG* の発現を qRT-PCR 法により検討した結果、FGF2 添加に伴い発現が減少することが明らかとなった (図 5)。

樹立したマーモセット ES 細胞は、フィーダー細胞を用いている。既報のマーモセット ES 細胞もフィーダーを用いて維持されている。より詳細なマーモセット ES 細胞の未分化維持シグナルを解析するために、feeder-free 化を行った。実際 MEF コンディション培地を用いることで、新規 feeder-free マーモセット ES 細胞の樹立に成功した。この際、MEF コンディション培地には FGF を追加添加すると、ES 細胞は分化してしまった。マーモセットは同じ霊長類であるが、マーモセット ES 細胞はヒト ES/iPS 細胞と異なり、FGF シグナルはネガティブに働くことが分かった。

図 5. FGF2 添加に伴う多能性マーカーの発現変動



さらに、マーモセット ES 細胞の多能性維持に必要なシグナルの探索を行なった。その結果、TGFb/Activin シグナル阻害剤添加時に多能性幹細胞マーカーの著しい減少が認められた (図 6)。Feeder-free 培養条件下で Activin A 添加に伴う多能性マーカーの発現を検討した結果、Activin 投与時に多能性マーカーの発現が維持されることが明らかとなった。

(2-2) ナイーブ型マーマセツ多能性幹細胞の誘導

プライム型マーマセツ ES 細胞を用いてナイーブ型多能性幹細胞を誘導するために、ヒトおよびマウスナイーブ型 ES 細胞のマーカ―として用いられている *OCT4* の遠位エンハンサーと相同性を有するゲノム領域をクローニングし、レポータープラスミドを作成した。これを導入したレポーター ES 細胞を用い、Guo et al., *Development* 2017 において報告されたヒトナイーブ型多能性幹細胞の誘導培地である cRM1 および cRM2 に基づいた培地でナイーブ化を行った。約 2 週間程度でナイーブ型多能性幹細胞の特徴である小型のコロニー形態を示すナイーブ様多能性幹細胞の誘導に成功した (図 7)。実際、遺伝子発現を確認したところ、プライム型とは異なる多能性遺伝子の発現を示した。

図 6. Activin 添加に伴う多能性マーカ―の発現変化

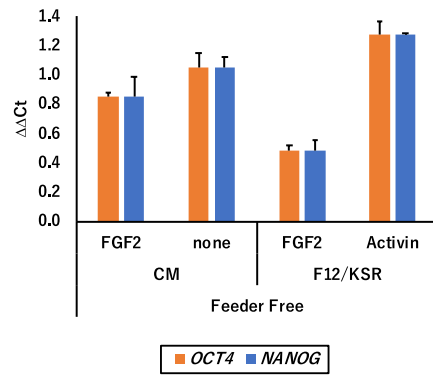
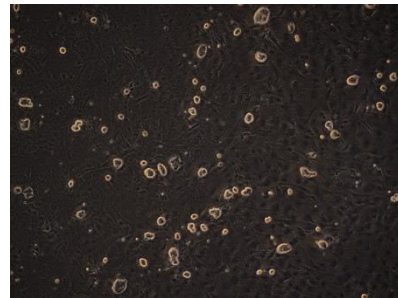


図 7. マーマセツ CiRA Reset ES 細胞



(3) マーマセツキメラ胚の作製技術の開発

(3-1) 着床を模倣した体外培養法の開発

ヒト胚の方法を基にマーマセツ着床後体外胚培養法を確立した。マーマセツ脱出胚盤胞を 20% FBS を含む IVC1 培地で培養、2-3 日後に dish に接着したタイミングで 30 % KSR を含む IVC2 培地に交換した。この方法でマーマセツ胚を受精後 17 日目まで体外培養が可能となった (図 8)。培地交換は、2 日に一回、半量ずつ実施した。

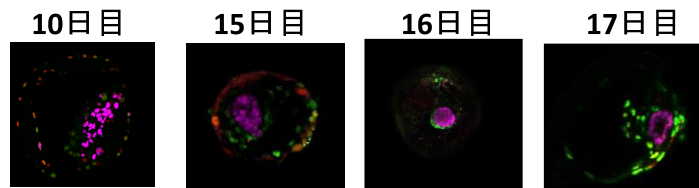


図 8. マーマセツ胚の着床後体外培養

(3-2) ES 細胞の注入によるキメラ胚

の作製

Tet-on BCL2 ES 細胞を 6 個のマーマセツ胚に注入し、着床後体外培養を実施した。透明帯から胚が脱出したのち、6 個全てで内部に胚盤様構造が確認された。免疫細胞染色の結果、oct 陽性の羊膜腔の形成が「確認できたが、GFP 陽性細胞は認められなかった。

Cira Reset ES 細胞を 4 個のマーマセツ胚に注入して、着床後体外培養を実施した。day7 までに 3 個中、1 個の胚は順調に胚発生が進み、胚盤様構造が確認された。蛍光観察を行った結果、ES 細胞に組み込まれているレポーター遺伝子は観察されなかった (図 10)。

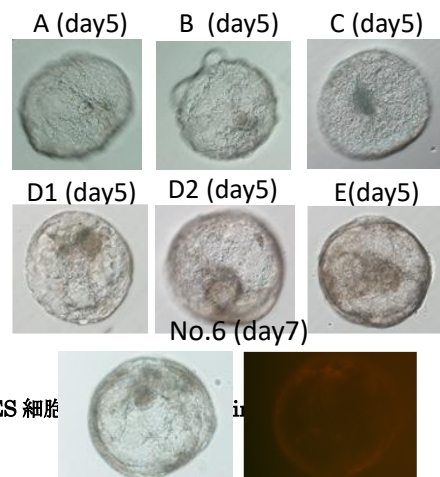


図 9. ES 細胞

図 10. ES 細胞(Cira Reset) chimera

本研究により、マーマセツキメラ胚作出技術の確立、マーマセツ ES 細胞のナイーブ化、疑似着床培養による ES 細胞のスクリーニング技術が確立された。今後、これらの技術をさらに進展し、キメラマーマセツ個体の獲得を目指したい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Watanabe T, Yamazaki S, Yoneda N, Shinohara H, Tomioka I, Higuchi Y, Yagoto M, Suemizu H, Kawai K, and Sasaki E.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Highly efficient induction of non-human primate iPS cells by combining RNA transfection and chemical compounds.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 黒滝陽子、佐藤賢哉、佐々木えりか	4. 巻 50
2. 論文標題 Academic Review 【非ヒト霊長類の医学研究への貢献】 Contribution to medical research of nonhuman primates	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 月刊 細胞	6. 最初と最後の頁 96-199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Stefano BD, Ueda M, Sabri S, Brumbaugh J, Huebner A, Sahakyan A, Clement K, Clowers KJ, Erickson A, Shioda K, Gygi SP, Gu H, Shioda T, Meissner A, Takashima Y, Plath K, Hochedlinger K.	4. 巻 15
2. 論文標題 Reduced MEK inhibition confers a growth advantage and improves genomic stability in naive human ES cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Methods	6. 最初と最後の頁 732-740
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41592-018-0104-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yu Leqian, Li Junjun, Hong Jiayin, Takashima Yasuhiro, Fujimoto Nanae, Nakajima Minako, Yamamoto Akihisa, Dong Xiaofeng, Dang Yujiao, Hou Yu, Yang Wei, Minami Itsunari, Okita Keisuke, Tanaka Motomu, Luo Chunxiong, Tang Fuchou, Chen Yong, Tang Chao, Kotera Hidetoshi, Liu Li	4. 巻 11
2. 論文標題 Low Cell-Matrix Adhesion Reveals Two Subtypes of Human Pluripotent Stem Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 142 ~ 156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2018.06.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 高島 康弘, 蝉 克憲, 上田 舞	4. 巻 150
2. 論文標題 ヒトナイーブ型ES/iPS細胞の性質と展開	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 363-366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoko Kurotaki, Erika Sasaki	4. 巻 34
2. 論文標題 Practical reproductive techniques for the common marmoset, J. Mamm.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Ova Res.	6. 最初と最後の頁 3~12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato Kenya, Sasaki Erika	4. 巻 63
2. 論文標題 Genetic engineering in nonhuman primates for human disease modeling	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 125~131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s10038-017-0351-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計56件(うち招待講演 14件/うち国際学会 12件)

1. 発表者名 岸本恵子、島田亜樹子、高橋司、篠原晴香、高島康弘、佐々木えりか
2. 発表標題 新規コモンマーモセットES細胞の樹立、
3. 学会等名 第65回日本実験動物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 汲田和歌子、鈴木康寛、佐々木えりか
2. 発表標題 CRISPER/CAS9によるノックイン・ノックアウトマーマセット作出に向けて
3. 学会等名 第65回日本実験動物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木えりか
2. 発表標題 Creating neuronal disease models using genome editing
3. 学会等名 22nd Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Seki Fumiko, Hikishima Keigo, Komaki Yuji, Nishio Marin, Hata Junichi, Uematsu Akiko, Okahara Norio, Sasaki Erika, Okano Hideyuki
2. 発表標題 Characterization of white matter structures growth in common marmosets.
3. 学会等名 International Society of Magnetic Resonance in Medicine 26th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Uematsu Akiko, Hata Junichi, Komaki Yuji, Seki Fumiko, Yamada Chihoko, Okahara Norio, Kurotaki Yoko, Sasaki Erika, Okano Hideyuki
2. 発表標題 Orbitofrontal-limbic structural development maturation in non-human primates: a longitudinal study.
3. 学会等名 International Society of Magnetic Resonance in Medicine 26th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Keiko Kishimoto, Akiko Shimada, Haruka Shinohara, Tsukasa Takahashi, Yuichiro Higuchi, Hiroshi Suemizu, Yasuhiro Takashima, Erika Sasaki
2. 発表標題 THE NOVEL EMBRYONIC STEM CELL LINES ESTABLISHED FROM COMMON MARMOSET
3. 学会等名 International Society for Stem Cell Research (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岸憲幸、佐藤賢哉、奥野弥佐子、伊東多恵、岡野洋尚、佐々木えりか、岡野栄之
2. 発表標題 レット症候群モデルマーマモセットの作製と解析
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤賢哉、汲田和歌子、佐久間哲史、盛岡朋恵、山崎栄子、黒滝陽子、山本卓、佐々木えりか
2. 発表標題 ゲノム編集技術を用いた改良型免疫不全モデルマーマモセット作製の試み
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塩澤誠司、吉松祥、中村真理、佐々木えりか、岡野栄之
2. 発表標題 ゲノム編集技術を用いたコモンマーマモセットES細胞における条件付き遺伝子改変技術の確立
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木えりか
2. 発表標題 小型非ヒト霊長類マーモセットモデルと遺伝子改変技術
3. 学会等名 関西実験動物研究会第139回研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂本晃海、 峰重隆幸、 篠原晴香、 佐々木えりか、 井上貴史
2. 発表標題 失血したコモンマーモセット3例への輸血療法の検討
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Erika Sasaki
2. 発表標題 “Current state of marmoset population in Japan and exchange of the marmoset genome resources”, “Generating genetically modified model marmoset”
3. 学会等名 ILAR roundtable “Care, Use and Welfare of Marmosets as Animal Models for Gene Editing-based Biomedical Research”（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤賢哉、盛岡朋恵、汲田和歌子、佐久間哲史、山崎栄子、黒滝陽子、山本卓、佐々木えりか
2. 発表標題 ゲノム編集技術を用いた改良型免疫不全モデルマーモセット作製の試み
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋司、佐々木えりか
2. 発表標題 遺伝子改変マーマーモセットモデルの現状と課題
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡部聡朗、藪上春香、井上貴史、峰重隆幸、坂本晃海、黒滝陽子、川路英哉、蓑田亜希子、佐々木えりか
2. 発表標題 マーマーモセット生殖細胞発生の理解
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山崎駿、渡部聡朗、佐々木えりか
2. 発表標題 RNAと化学物質を使用したマーマーモセットiPS細胞誘導法の開発
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤人美、高橋司、江藤智生、梅山一大、長嶋比呂志、佐々木えりか
2. 発表標題 発光レポーターを用いた移植胚選抜による遺伝子改変動物作製の効率化
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木えりか
2. 発表標題 実験動物としてのマーマセットについて
3. 学会等名 埼玉医科大学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎駿、渡部聡朗、佐々木えりか
2. 発表標題 RNAと化学物質を使用したマーマセットiPS細胞誘導法の開発
3. 学会等名 第8回日本マーマセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木えりか
2. 発表標題 マーマセットにおける遺伝子改変モデルの展望
3. 学会等名 第8回日本マーマセット研究会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 越後貴成美、阿部由希子、黒滝陽子、中尾和貴、佐々木えりか、饗場篤、小倉淳郎
2. 発表標題 幼若雄マーマセット由来未成熟精子からの産仔作出
3. 学会等名 第8回日本マーマセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 畑純一、関布美子、小牧裕司、太田裕貴、岡野ジェイムス洋尚、佐々木えりか、岡野栄之
2. 発表標題 MRI技術で構造・機能・生体物質を可視化する
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 笹栗弘貴、汲田和歌子、関口みさき、藤岡亮、松葉由紀夫、永田健一、佐々木えりか、西道隆臣
2. 発表標題 塩基編集技術を利用したアルツハイマー病モデル動物作製
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsunoti Semi, Akiko Shimada, Erika Sasaki, Knut Woltjen, Yasuhiro Takashima
2. 発表標題 Analysis of the induction mechanisms for KLF4 expression in marmoset PSCs.
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部聡朗、藪上春香、井上貴史、峰重隆幸、坎本晃海、黒滝陽子、川路英哉、蓑田亜希子、佐々木えりか
2. 発表標題 マーモセット生殖細胞発生の理解
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岸本恵子、Huaiyu Hu、佐々木えりか
2. 発表標題 マームセット胚の着床後における対外培養
3. 学会等名 第8回日本マームセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒滝陽子、山田祐子、清田圭子、越後貫成美、石淵智子、濱野都、澤田賀久、富樫充良、小倉淳郎、佐々木えりか
2. 発表標題 コモンマームセット無力奇形精子症へのカルシウムイオノフォアを用いた人為的卵活性化の効果
3. 学会等名 第8回日本マームセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱野都、山田祐子、黒滝陽子、石淵智子、澤田賀久、富樫充良、峰重隆幸、坂本晃海、佐々木えりか
2. 発表標題 雌コモンマームセットにおける卵管造影検査の効果
3. 学会等名 第8回日本マームセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中嶋舞高、吉松祥、佐々木えりか、塩澤誠司、岡野栄之
2. 発表標題 RNAリプログラミング法による新規マームセットiPS細胞樹立方法の検討
3. 学会等名 第8回日本マームセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田祐子、濱野都、黒滝陽子、澤田賀久、石淵智子、富樫充良、高橋司、佐々木えりか
2. 発表標題 トランスジェニックマーモセットを用いた人工受精の検討
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋司、佐藤人美、江藤智生、橋本晴夫、梅山一大、長嶋比呂志、佐々木えりか
2. 発表標題 発光レポーターを用いた移植胚選抜によるトランスジェニックマーモセット作製の効率化
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岸憲之、佐藤賢哉、奥野弥佐子、伊東多恵子、岡野ジェームズ洋尚、佐々木えりか、岡野栄之
2. 発表標題 レット症候群モデルマーモセットの作製と解析
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fumiko Seki, Keigo Hikishima, Yuji Komaki, Marin Nishio, Junichi Hata, Akiko Uematsu, Norio Okahara, Erika Sasaki, Hideyuki Okano
2. 発表標題 Multiparametric analysis of life-span brain maturation and degeneration
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Junichi Hata, Kouya Yachida, Yawara Haga, Takaaki Kaneko, Reona Kobayashi, Naoki Kawaguchi, Kei Hagiya, Noriyuki Kishi, Erika Sasaki, Hideyuki Okano
2. 発表標題 Brain Function of the Transgenic Marmoset harboring Mutant alpha-Synuclein using resting state fMRI
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Teppei Ebina, Yoshito Masamizu, Akiya Watakabe, Daisuke Koketsu, Kazuo Hikosaka, Hiroaki Mizukami, Atsushi Nambu, Erika Sasaki, Tetsuo Yamamori, Masanori Matsuzaki
2. 発表標題 Two-photon imaging of neuronal activity in the motor cortex of common marmosets during reaching tasks
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 芝田晋介、信藤知子、伊勢田太郎、近藤崇弘、井上貴史、佐々木えりか、岡野栄之
2. 発表標題 マーモセット脳のマイクロネクトーム解析
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 塩澤誠司、吉松祥、中村真理、佐々木えりか、岡野栄之
2. 発表標題 ゲノム編集を用いたマーモセットES細胞におけるコンディショナル・ノックアウトシステムの構築
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 篠原晴香、岸本恵子、佐々木えりか
2. 発表標題 マーモセットES細胞における染色体不安定性
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 汲田和歌子、鈴木康寛、佐々木えりか
2. 発表標題 ゲノム編集をもちいた未受精卵注入法による片アレル改変胚の作出
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坎本晃海、峰重隆幸、井上貴史、関布美子、佐々木えりか
2. 発表標題 重度の歯根膿瘍を呈し死亡したコモンマーモセットの1症例とそのCT所見
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木えりか、Translational and Regulatory Sciences Symposium
2. 発表標題 Nonhuman Primate models for Translational Science
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Erika Sasaki
2. 発表標題 Development of Genetically Modified Non-Human Primate Disease Models
3. 学会等名 Keystone Symposia Conference/ Genome Engineering: From Mechanisms to Therapies (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Erika Sasaki
2. 発表標題 Development Non-human Primate Disease models by Genetic Engineering
3. 学会等名 2nd Internatioal Primate Neuroscience Research Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高島 康弘
2. 発表標題 iPS細胞の誕生・現在・未来 iPS細胞を若返らせるー
3. 学会等名 日本アンチエイジング歯科学会第13回学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高島 康弘
2. 発表標題 Primitive endoderm specification from naive pluripotent stem cells in human "
3. 学会等名 From stem cell to human developmen
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高島 康弘
2. 発表標題 実用化に向けたヒトナイーブ型iPS細胞に関する最新知見
3. 学会等名 BioJapan2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高島 康弘
2. 発表標題 ヒトナイーブ型iPS細胞を用いてヒト初期発生を解析する
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashima Yasuhiro, Ueda Mai, Shimada Akiko, Sasaki Erika
2. 発表標題 Derivation of common marmoset primed ES cells under human primed ES cell culture condition
3. 学会等名 ISSCR 2017 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西川泰輔、黒滝陽子、清水善久、渡部聡朗、佐々木えりか、榊原康文
2. 発表標題 コモンマーモセット着床前胚における内部細胞塊の分子的多様性
3. 学会等名 第7回 日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塩澤誠司、吉松祥、中村真理、佐々木えりか、岡野栄之
2. 発表標題 コモンマーモセットES 細胞における条件付き遺伝子改変技術の確立
3. 学会等名 第7回 日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岸本恵子、島田亜樹子、高橋 司、篠原晴香、高島康弘、佐々木えりか
2. 発表標題 新規マーモセット ES 細胞の樹立
3. 学会等名 第7回 日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasuhiro Takashima, Katsunori Semi, Akiko Shimada, Erika Sasaki
2. 発表標題 Pluripotent stem cells in human and common marmoset
3. 学会等名 第7回 日本マーモセット研究会大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Erika Sasaki
2. 発表標題 Genetically modified non-human primate model
3. 学会等名 The American Society for Neural Therapy and Repair, 2017 Annual Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Erika Sasaki
2. 発表標題 Development of genetically modified marmoset models
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Conference Asia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Erika Sasaki
2. 発表標題 Genome editing of NHP embryos for creating disease model
3. 学会等名 IBS-Nature Conference on Frontiers in Genome Engineering (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Erika Sasaki
2. 発表標題 Genome editing in non-human primates
3. 学会等名 The Wellcome Trust Sanger Institute AZ CRISPR Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計8件

1. 著者名 Atsushi Iriki, Hiroataka James Okano, Erika Sasaki, Hideyuki Okano (編集)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer Japan	5. 総ページ数 388
3. 書名 The 3-Dimensional Atlas of the Marmoset Brain: Reconstructible in Stereotaxic Coordinates (Brain Science)	

1. 著者名 佐藤賢哉、佐々木えりか	4. 発行年 2018年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 272
3. 書名 医療応用をめざすゲノム編集 最新動向から技術・倫理的課題まで	

1. 著者名 佐々木えりか監修、井上貴史・黒滝陽子・三木理雅編集	4. 発行年 2018年
2. 出版社 アドスリー	5. 総ページ数 224
3. 書名 マームセットラボマニュアル はじめての取扱いから研究最前線まで	

1. 著者名 Robert Marini Lynn Wachtman Suzette Tardif Keith Mansfield James Fox(編集)、佐々木えりか他著	4. 発行年 2018年
2. 出版社 ACADEMIC PRESS	5. 総ページ数 537
3. 書名 The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research	

1. 著者名 コモンマームセット 神経疾患モデルとしての可能性	4. 発行年 2017年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 90
3. 書名 生体の科学	

1. 著者名 戸田 達史	4. 発行年 2017年
2. 出版社 メディカルドゥ	5. 総ページ数 301
3. 書名 最新精神・神経遺伝医学研究と遺伝カウンセリング	

1. 著者名 森 啓	4. 発行年 2017年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 252
3. 書名 認知症 発症前治療のために解明すべき分子病態は何か？	

1. 著者名 松原 洋一	4. 発行年 2017年
2. 出版社 メディカルドゥ	5. 総ページ数 288
3. 書名 難病研究up-to-date-臨床病態解析と新たな診断・治療法開発をめざして-(遺伝子医学M00K32号)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高島 康弘  (Takashima Yasuhiro)  (70469930)	京都大学・iPS細胞研究所・特定拠点講師   (14301)	
連携研究者	黒滝 陽子  (Kurotaki Yoko)  (80771229)	公益財団法人実験動物中央研究所・999・室長   (72611)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	岸本 恵子 (Kishimoto Keiko) (40616744)	公益財団法人実験動物中央研究所・999・研究員  (72611)	