

Title	ヒト疾病を標的とした遺伝子改変ゴールデンハムスターの解析基盤の構築
Sub Title	Establishment of genetically modified golden hamsters as human disease models
Author	蓮輪, 英毅(Hasuwa, Hidetoshi)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	3年計画の2年度目として、以下の研究を実施した。 1) 遺伝子改変ゴールデンハムスター作製基盤の構築 昨年度に引き続き複数のヒト疾患遺伝子のノックアウト、ノックインゴールデンハムスターの作製を実施したが、目的の遺伝子型を得ることができなかった。ゴールデンハムスターの初期胚は光毒性などがあり、マウスなどに比べて発生工学手法が難しい。そのような理由から、ゲノム編集の難易度が高いために作製効率が低いと考えていたが、マウスを用いたマイクロインジェクションによるゲノム編集から、gRNAおよびCAS9タンパク質の毒性が配列及びロットにより異なる可能性が見えてきた。そのため、取り扱いが容易なマウス胚を用いて核酸およびタンパク質量の最適化を再検討し、効果的な濃度を検討した。これらの得られた情報を元にゴールデンハムスターのゲノム編集実験プロトコルを再設定した。 2) ゴールデンハムスターにおけるヒト疾患関連遺伝子の探索 ゴールデンハムスターにはマウスには無いヒト疾患の原因となる遺伝子が存在しており、申請者はこれまでにマウスにはないPIWIL3遺伝子が初期発生に機能していることを明らかにしている。また、ノックアウトマウスで表現型が見られなかった遺伝子をゴールデンハムスターで欠損させると表現型を示すことが複数報告されている。そのため、共同研究者から未公開のノックアウトマウスデータベースの供与を受け、表現型がないマウス遺伝子の絞り込みを行い、ヒト疾病との関わりに関する情報を加え、ゴールデンハムスターで遺伝子ノックアウトを実施する価値のある遺伝子リストを作成した。現時点では不完全であるため完成させると同時に、複数の遺伝子についてゲノム編集を実施し、マウスをモデルとした解析では明らかにされなかった遺伝子機能の解析の基盤を構築する。 1) Construction of a platform for producing genetically modified golden hamsters Continuing from last year, we attempted to knockout and knock-in golden hamsters, but we were unable to obtain the expected genotype. Because of early embryos of golden hamsters are phototoxic, engineering techniques of early embryo is difficult compared to mice. For these reasons, we thought that the production efficiency would be low due to the high degree of difficulty of genome editing in golden hamsters, but from genome editing by microinjection using mice, we found that the toxicity of gRNA and CAS9 protein may be depending on the sequence and amount. Therefore, we reexamined the optimization of nucleic acid and protein amounts using mouse embryos, which are easy to handle, and examined effective concentrations. Based on the information obtained, we reconfigured the golden hamster genome editing experimental protocol. 2) Search for human disease-related genes in golden hamsters We have previously shown that the PIWIL3 gene, which mice do not have, functions during early development. Furthermore, it has been reported that when some genes that do not show any phenotype in knockout mice are deleted in golden hamsters, they exhibit phenotypes. For this reason, we received an unpublished knockout mice database from our collaborators, narrowed down mouse genes that have no phenotype, added information on their relationship to human diseases, and determined which genes are worth performing gene knockout in golden hamsters. At the next year, genome editing will be performed on multiple genes to build a foundation for analysis of gene functions that have not been elucidated by mouse model analysis.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230276

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2023年度 学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部共同利用研究室	職名	専任講師	補助額	1,000千円 (特A)
	氏名	蓮輪 英毅	氏名(英語)	Hasuwa, Hidetoshi		
研究課題(日本語)						
ヒト疾病を標的とした遺伝子改変ゴールデンハムスターの解析基盤の構築						
研究課題(英訳)						
Establishment of genetically modified golden hamsters as human disease models						
1. 研究成果実績の概要						
3年計画の2年度目として、以下の研究を実施した。						
1) 遺伝子改変ゴールデンハムスター作製基盤の構築						
昨年度に引き続き複数のヒト疾患遺伝子のノックアウト、ノックインゴールデンハムスターの作製を実施したが、目的の遺伝子型を得ることができなかった。ゴールデンハムスターの初期胚は光毒性などがあり、マウスなどに比べて発生工学手法が難しい。そのような理由から、ゲノム編集の難易度が高いために作製効率が低いと考えていたが、マウスを用いたマイクロインジェクションによるゲノム編集から、gRNAおよびCAS9タンパク質の毒性が配列及びロットにより異なる可能性が見えてきた。そのため、取り扱いが容易なマウス胚を用いて核酸およびタンパク質量の最適化を再検討し、効果的な濃度を検討した。これらの得られた情報を元にゴールデンハムスターのゲノム編集実験プロトコルを再設定した。						
2) ゴールデンハムスターにおけるヒト疾患関連遺伝子の探索						
ゴールデンハムスターにはマウスには無いヒト疾患の原因となる遺伝子が存在しており、申請者はこれまでにマウスにはないPIWIL3遺伝子が初期発生に機能していることを明らかにしている。また、ノックアウトマウスで表現型が見られなかった遺伝子をゴールデンハムスターで欠損させると表現型を示すことが複数報告されている。そのため、共同研究者から未公開のノックアウトマウスデータベースの供与を受け、表現型がないマウス遺伝子の絞り込みを行い、ヒト疾病との関わりに関する情報を加え、ゴールデンハムスターで遺伝子ノックアウトを実施する価値のある遺伝子リストを作成した。現時点では不完全であるため完成させると同時に、複数の遺伝子についてゲノム編集を実施し、マウスをモデルとした解析では明らかにされなかった遺伝子機能の解析の基盤を構築する。						
2. 研究成果実績の概要(英訳)						
1) Construction of a platform for producing genetically modified golden hamsters						
Continuing from last year, we attempted to knockout and knock-in golden hamsters, but we were unable to obtain the expected genotype. Because of early embryos of golden hamsters are phototoxic, engineering techniques of early embryo is difficult compared to mice. For these reasons, we thought that the production efficiency would be low due to the high degree of difficulty of genome editing in golden hamsters, but from genome editing by microinjection using mice, we found that the toxicity of gRNA and CAS9 protein may be depending on the sequence and amount. Therefore, we reexamined the optimization of nucleic acid and protein amounts using mouse embryos, which are easy to handle, and examined effective concentrations. Based on the information obtained, we reconfigured the golden hamster genome editing experimental protocol.						
2) Search for human disease-related genes in golden hamsters						
We have previously shown that the PIWIL3 gene, which mice do not have, functions during early development. Furthermore, it has been reported that when some genes that do not show any phenotype in knockout mice are deleted in golden hamsters, they exhibit phenotypes. For this reason, we received an unpublished knockout mice database from our collaborators, narrowed down mouse genes that have no phenotype, added information on their relationship to human diseases, and determined which genes are worth performing gene knockout in golden hamsters. At the next year, genome editing will be performed on multiple genes to build a foundation for analysis of gene functions that have not been elucidated by mouse model analysis.						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			