

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 2 年 4 月 30 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所 属 機 関 名 地方独立行政法人大阪府立病院機構
大阪母子医療センター
職 名 流動研究員
研 究 代 表 者 細木華奈

下記のとおり令和元年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 18002)

1. 共同研究課題名	(和) ゲノム編集による遺伝性肥満モデルマウスの作成 (英) Establishment of a novel obesity mouse model using CRISPR/Cas9			
2. 共同研究目的	本共同研究は、ゲノム編集により遺伝子改変マウスを作製し、遺伝性肥満に関わる父性発現遺伝子の機能解明を目的とする。 本研究ではゲノム刷り込み関連疾患: プラダー・ウィリー症候群(PWS)の責任候補遺伝子を対象とし、PWS の責任遺伝子およびエピジェネティックな制御機構が検討できる。PWS は遺伝性肥満として最も頻度の高い疾患であり、過食などの中枢神経症状を呈する。本モデルマウスの解析から、肥満の分子機序、過食に関わる神経学的メカニズムの解明が可能となり、代謝機能解明の発展へ貢献が期待できる。			
3. 共同研究期間	平成31年 4月 1日 ~ 令和 2 年 3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 細木華奈	大阪母子医療センター	流動研究員	研究の統括	
(分担研究者)				
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	ゲノム科学リソース分野	氏 名	畑田出穂

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

ゲノム編集の対象となるマウス遺伝子情報をもとに、大阪母子医療センター(代表者所属)にてゲノム編集を実施するための CRISPR guideRNA (gRNA) 配列を設計し、マウス培養細胞にてスクリーニングする。

*in vitro*にて on-target(標的との配列切断)および off-target(標的以外の配列切断)を検討し、選定された gRNA を用いてマウス卵でのゲノム編集を群馬大学生体調節研究所にて共同研究として実施する。エレクトロポレーションで受精卵のゲノム編集を行い、作出される遺伝子改変マウスの遺伝型を評価する。

本研究にて解析対象とする遺伝子はゲノム刷り込みにより調節されるため、親由来により発現パターンが異なり父由来/母由来の区別が必要となる。従って、目的とする遺伝型のマウス作出には、系統維持と交配が必要である。飼育および観察期間が長期化するため、マウスが作出された段階で、該当の雄マウスもしくは凍結胚などを大阪母子医療センターへ輸送する。大阪母子医療センターへのマウス移動後は、マウス表現型解析・分子生物学的解析などの結果は両施設において共有し、共同研究として進める予定である。

7. 共同研究の成果

昨年度から引き続き代表者所属先での *in vitro* 解析が中心となった。ヒトおよびマウスのゲノム配列の確認、および、ゲノム編集の対象となるマウスゲノム領域選定に留まった。マウスモデルの作成までには至らなかった理由は、ヒト・マウス間でのゲノム構造の違いにより標的領域の選定が困難であった点である。

本研究で対象とするゲノム領域は複数のノンコーディング RNA がクラスターを形成する特殊構造をもち、ヒト・マウス共に反復配列が大半を占め、特異的な標的となる gRNA 設計が困難であった。また、研究対象の PWS はヒト・マウス間でエピジェネティックな制御機構は同一と考えられているが、本研究に関係する父性発現遺伝子の制御機構に関して、ヒト・マウス間で一致しない結果が実施期間中に報告された。これにより、マウスにおいて PWS の表現型を再現させる病態モデルマウス作成は不確実である可能性が高くなった。PWS 責任領域における父性発現遺伝子の制御機構はヒトにおいても不明点が多く、疾患モデルマウス作成の前に、ヒトでの PWS 領域に関わるエピジェネティックな調節機構の解明、および、同領域のヒト・マウス間のエピゲノム情報の差異を明らかにする事が優先であると考えられた。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

令和元年度に関しては、論文報告はありません。

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

令和元年度に関しては、本課題に関する論文報告はありません。