

【目的】 マウスは生命科学研究における中心的な実験動物であり、多くのヒトの生物学の理解に貢献してきた。一方で、近年、ヒトとマウスの遺伝学的、生理学的違いも明確になってきており、このため、単純にマウスで得られた知見をヒトに外挿することが困難であることも広く理解され始めている。ゴールデンハムスター (Golden Syrian hamsters/golden hamster : *Mesocricetus auratus*) はヒトの生理学的および薬理的反応に似た多くの特徴を示すため、ヒトの病気、特に癌や感染症の発症研究や生殖研究に早くから実験動物として用いられてきた歴史がある。今回の Covid-19 パンデミックに際しても、感染・発症機構の解析に広くモデル動物として使用されている。しかしながら、マウスやラットのように近交系が十分に樹立されていないこと、ゲノム情報が不足していること、卵子や初期胚が光、温度、pH などの影響を極めて受けやすく発生工学技術の応用が難しいことから、遺伝子機能を解析するモデル動物として利用されることはなかった。本研究はゴールデンハムスターをヒト疾患モデル動物として利用するため、正確なゲノム DNA 配列情報の取得とゲノム編集技術の開発を目的とした。

【方法】 ゴールデンハムスター DNA のショートリード (イルミナ) とロングリード (PacBio) を組み合わせた解析を行い、高品質のゲノム配列情報を取得した。さらに、HiC (MesAur1.0_HiC、DNA Zoo) データを用いることで、これらを染色体レベル (2n=24) にまで組み立て、精巧な遺伝子のアノテーションを達成した。このゲノム配列情報を利用し、CRISPR-Cas9 システムを用いることで特定の遺伝子を不活化した (ノックアウト/KO) ゴールデンハムスターの作出に成功した。この際、ゴールデンハムスターの卵や初期胚が光の影響を極めて受けやすいため、暗室における胚操作技術を確認した。

【結果】 *PIWI* 遺伝子は哺乳類だけでなく多くの動物に保存された遺伝子群であり、それらがコードするタンパク質は生殖細胞特異的小分子 RNA (25~33 塩基長) である piRNA と複合体を形成し、転移因子 (トランスポゾン) が引き起こすゲノム配列・構造変異を抑制している。マウスでは 3 種の *Piwi* 遺伝子が存在し、それらが精巣でのみ機能していることが明確になったため、PIWI-piRNA 経路は哺乳類の卵子形成における機能はないと考えられてきた。一方、ヒトを含む多くの哺乳動物は 4 種の PIWI 遺伝子を有しており、このことから多くの哺乳動物は、マウスとは異なる PIWI-piRNA 経路による遺伝子の発現制御を有する可能性が提唱された。これを検証するために、ゴールデンハムスターの 4 種の *PIWI* 遺伝子の内、卵子で強く発現している 2 種類の *PIWI* 遺伝子 (*PIWIL1*、*PIWIL3*) の KO ハムスターを作製した。その結果、作製した *PIWI* KO ハムスター雌は不妊を示した。これらの結果はマウスを用いた研究では得られないものであり、哺乳動物の遺伝子解析におけるゴールデンハムスターの価値が示された。

遺伝子 KO ゴールデンハムスターの作製



	number of founder pups	number of mutant pups	mutant hamster lines
gR-1	10	1	-
gR-2	4	4	#25A ^{del89} , #25B ^{del4} , #25C ^{del300} , #26A ^{del192} , #26B ^{del41} , #26C ^{del2} , #26D ^{del39} , #26E ⁺⁴
gR-3	4	3	#33A ^{del8} , #33B ^{del172} , #33C ^{del329} , #36A ^{del8} , #36B ^{del4}