

研究課題名	【Web 会議番号 2019_15】 鶏卵アレルゲン除去卵の作出
フリガナ	ミズシマ シュウセイ
代表者名	水島 秀成
所属機関 (機関名) (役職名)	北海道大学大学院理学研究院生物科学部門 助教
本助成金による発 表論文, 学会発表	学会発表 The role of inositol-trisphosphate receptors during egg activation in Japanese quail. The 2nd International Conference on Tropical Animal Science and Production 2019. July 9-12, 2019. Suranaree University of Technology, Thailand. * Award for the best poster presentation to S. Mizushima.

研究結果要約

本研究課題では、鶏卵アレルゲン物質であるオボアルブミン、オボムコイド、オボトランスフェリンを欠損したノックアウトウズラを CRISPR/Cas9 システムを用いて創出することを目的とした。

それぞれの遺伝子の翻訳開始地点近傍に gRNA を設計し、in vitro 転写システムによりそれぞれの gRNA ならびに Cas9 mRNA を合成した。排卵直後のウズラ卵に精子を直接注入（顕微授精）することにより、または自然交配により卵管から得られた 1 細胞期受精卵に、3 つの遺伝子を標的とした gRNA および Cas9 mRNA を顕微注入し、卵培養を行った。一部の初期胚から DNA を注入し、塩基配列の編集を確認したところ、同一個体の全ての遺伝子に 1-5 塩基の欠損が確認され、更にはホモでゲノム編集が施されていた。しかしながら、全ての個体が孵化直前で死亡する結果となった。コントロール群と比較して、死亡した胚の重量は約 5 割減少しており、特に頭部および胸筋の形成に異常が生じていた。またコントロール胚の脳および筋肉における mRNA 発現を解析した結果、オボアルブミンとオボトランスフェリンが両方に、オボムコイドは脳において発現していることが判明した。本研究から、オボアルブミン、オボムコイド、オボトランスフェリンは、脳や筋肉の形成・発達に必要な遺伝子であり、3 つの遺伝子をノックアウトしたウズラ個体は致死になることが分かった。