

平成 28 年度 共同研究報告書

研究区分	一般共同研究	
研究課題	<i>In vivo</i> エレクトロポレーションを用いたハダカデバネズミ脳への遺伝子導入技術の確立ならびに発癌モデルの構築	
新規・継続の別	新規	
研究代表者	所属	慶應義塾大学 医学部 先端医科学研究所 遺伝子制御研究部門
	職名・氏名	特任助教・大西伸幸
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	北海道大学 遺伝子病制御研究所
	職名・氏名	准教授・三浦恭子
	所属	北海道大学 遺伝子病制御研究所
	職名・氏名	JSPS 特別研究員・宮脇慎吾
	所属	北海道大学 遺伝子病制御研究所
職名・氏名	大学院生・大岩祐基	
受け入れ教員	職名・氏名	准教授・三浦恭子
研究目的 (300 字程度)	<p>ハダカデバネズミは、癌化耐性を持つ著しい長寿命齧歯類であり、その癌化・老化耐性の分子メカニズムに注目が集まっている。ハダカデバネズミの未知なる性状を理解し、癌化・老化耐性の分子メカニズムを明らかにするためには発癌モデルの構築が必須である。申請者はこれまでにマウス脳より神経幹細胞を樹立し、癌遺伝子導入後にマウス脳への移植を行う <i>ex vivo</i> 脳腫瘍モデルの構築ならびに解析より、ヒト悪性脳腫瘍に酷似した特徴を有するマウス脳腫瘍を短期間に 100% の確率で作製することに成功している。また、申請者はマウス脳への直接遺伝子導入による発癌モデルの構築も進めていることから、本申請研究では、マウス脳腫瘍モデルを応用し、ハダカデバネズミ脳に <i>in vivo</i> エレクトロポレーションを用いて遺伝子を直接導入する技術の確立ならびに脳腫瘍モデルの構築を目的とする。</p>	
研究内容・成果 (1000 字程度)	<p>申請者はまず、ハダカデバネズミ脳から神経幹細胞を樹立した。この細胞に癌遺伝子を導入し、免疫不全マウスへの異種同所移植を行うことで、マウス神経幹細胞の腫瘍形成能との比較解析が可能となる。</p> <p>2016 年 5 月 24 から 25 日に研究分担者の研究室に滞在し、マウス脳から樹立した神経幹細胞に癌遺伝子を導入後、マウス脳への移植を行うことで可能となったヒト悪性脳腫瘍に酷似した特徴を有するマウス脳腫瘍 <i>ex vivo</i> モデルの構築についてプレゼンテーションを行い、また、マウス脳への直接遺伝子導入による発癌モデルの構築についてもディスカッションを行った。</p> <p>さらにハダカデバネズミ個体における脳腫瘍モデルを構築するた</p>	

	<p>めに、ハダカデバネズミ脳への <i>in vivo</i> エレクトロポレーション法の確立および同研究室の研究員に技術指導を行った。申請者滞在中にちょうど生まれた新生仔ハダカデバネズミの脳室内にガラスキャピラリーにて色素液と GFP 発現ベクターの混合液を注入したところ、脳室への流入が認められた。また、新生仔マウスとの脳室形状の違いも確認した。次に細胞に取り込ませるために、PBS 緩衝液で湿らせたピンセット型電極で下顎と注入部位を挟み、パルスをかけた。パルス条件はマウス新生仔と同条件で行った。翌日、新生仔ハダカデバネズミの頭皮を除去し、UV ランプ下で観察したところ、GFP の蛍光が確認できた。解剖後、全脳を 4% PFA 固定液につけて保存した。脳の中の部位に GFP が導入されたかを調べるために、クライオスタットにて切片を作製した後、免疫染色による解析が現在研究分担者の研究室において進行中である。</p> <p>以上のことから、ハダカデバネズミ新生仔においてもマウスと同様に遺伝子導入を行う実験系の確立に成功した。</p>
成果	<p>【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと該当なし</p> <p>【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと <u>Miyawaki S</u>, Kawamura Y, Oiwa Y, Shimizu A, Hachiya T, Bono H, Koya I, Okada Y, Kimura T, Tsuchiya Y, Suzuki S, <u>Onishi N</u>, Kuzumaki N, Matsuzaki Y, Narita M, Ikeda E, Okanoya K, Seino K, Saya H, Okano H, <u>Miura K</u>. Tumour resistance in induced pluripotent stem cells derived from naked mole-rats. <i>Nat Commun.</i> 2016 7:11471. doi: 10.1038/ncomms11471. IF: 11.329</p> <p>【新聞報道】 該当なし</p>