

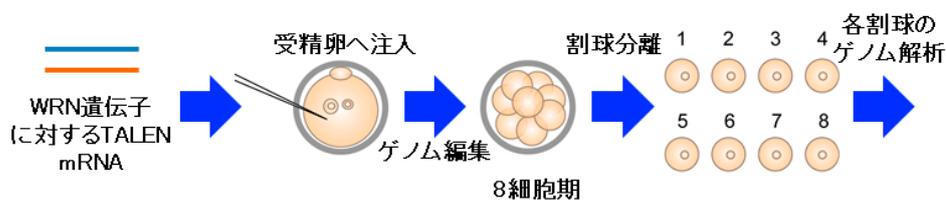
【目的】ヒトには、遺伝的早老症と呼ばれる疾患群があり、白髪・脱毛や白内障、皮膚の萎縮など、各種の老化症候が暦年齢に比べて早発し促進されることが知られている。中でも常染色体劣性遺伝の Werner 症候群（以下、WS と略）は、成人期に老化が促進される accelerated aging syndrome の代表であり、糖尿病や動脈硬化、骨髄異形成症候群など、一般集団でも加齢とともに好発する疾病を早期から高頻度に合併する。したがって、WS の病態解明は、この難病に革新的治療法をもたらすのみならず、ヒト老化機序全般の理解や介入手法開発に大きな手掛かりを与えると期待されている。本疾患は、RecQ 型 DNA ヘリケース *WRN* の遺伝子変異を原因とすることが示されているものの、そのノックアウト（KO）マウスは何ら早老形質を示さないため、齧歯類をはじめ病態解明研究に用いることのできる動物モデルが存在しない。ところが、近年のゲノム編集技術を用い、非ヒト霊長類マーマセットの遺伝子を改変して KO モデルを作製することが日本国内で可能となった。そこで我々は、*WRN* 遺伝子を欠損した老化促進マーマセットモデルを世界に先駆けて開発、その形質と分子病態を解明することを研究の目的とした。

【方法】ヒト/マーマセット共通配列を標的とした *WRN* TALEN を設計し、その活性を *in vitro* および *in vivo* で検証、マーマセット受精卵への TALEN mRNA 注入と割球におけるゲノム解析を行うとともに、移植へ向けたゲノム編集受精卵の作製と仮親マーマセットの準備を行った。

【結果】マーマセット *WRN* 遺伝子のノックアウトを目的として、Exon 2、3 を標的とした TALEN をそれぞれ 2 セットずつ設計した。構築した *WRN* TALENs を HEK293T 細胞にトランスフェクションし、48 時間後に回収して遺伝子の変異解析を行ったところ、2 種類の TALEN Ex2A および Ex3A が高活性を示すことが分かった。続いて、TALEN mRNA をマーマセットの受精卵へ注入し、8 細胞期において割球を分離、Surveyor アッセイと sequence 解析でゲノム解析を実施した結果、Ex2A に *WRN* 遺伝子の編集が確認された。すなわち、*WRN* Exon2 に対する TALEN を用いることで、高効率・低毒性のゲノム編集ツールの開発を完了できたと考えられる。2020 年 4 月現在、新型コロナウイルス感染症の影響により研究遂行に制約があるものの、実験動物中央研究所との連携を通じて、移植用ゲノム編集受精卵の作製と移植対象となる仮親マーマセットの準備を進めている。研究再開の暁には、仮親子宮への受精卵移植を実施し、個体を得て、その表現型解析を実施する計画である。

WRN 遺伝子ノックアウトマーマセットの作製と解析を通じた老化病態の解明

ゲノム編集ツールの開発とその評価



早老症モデルマーマセットの創出

