

令和元年9月3日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H02480

研究課題名(和文)常染色体優性遺伝病モデル遺伝子改変ブタにおける病態発症機構の解明と表現型制御

研究課題名(英文)Elucidation of etiology and phenotypic control in a porcine autosomal dominant genetic disease model

研究代表者

長嶋 比呂志 (Nagashima, Hiroshi)

明治大学・農学部・専任教授

研究者番号：50318664

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,100,000円

研究成果の概要(和文)：我々は常染色体優性遺伝病であるマルファン症候群(MFS)モデルブタを、責任遺伝子であるFibrillin1(FBN1)に変異(Glu433AsnfsX98)を導入して作出した。続いて、ブタFBN1プロモーター領域を解析し、FBN1 CpG shoreに一塩基多型(SNP)を有するブタの系統を見つけ出した。雌性MFSブタと雄性SNPブタの後代産仔(F1)を作出し、FBN1 CpG shoreのメチル化状態とFBN1の発現量の関係を調べる事が可能な個体を樹立した。解析の結果、遺伝子発現の低下を伴うハプロ不全病の発症にエピジェネティクスが関与する事を示唆する結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

常染色体優性遺伝病において、正常アリルのみからの発現量では遺伝子産物量が不足するために発症するものはハプロ不全と呼ばれる。ハプロ不全では原因遺伝子の塩基配列のみからは十分説明できないため、発症の有無に浸透度、発症組織の違いなどに表現度といった遺伝学用語を当てはめて、統計的な確率論として議論してきた。本研究では、ハプロ不全性の優性遺伝病の発症機序にエピジェネティクスからアプローチしている。エピジェネティクス研究によってハプロ不全性優性遺伝病の病態発現の制御が解明できれば、疾患モデルブタを用いた前臨床的研究や創薬研究が飛躍的に発展することが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Marfan syndrome (MFS) is an autosomal dominant genetic disease. We established a porcine model for MFS by introducing a mutation (Glu433AsnfsX98) in the Fibrillin1 (FBN1) gene. We also identified a single nucleotide polymorphism (SNP) in FBN1 promoter CpG shore in a pig. Using the offspring (F1) obtained by mating of MFS females and a SNP-identified male, relationship between the methylation status of FBN1 CpG shore and the expression level of FBN1 was identified. Our results suggested that epigenetic modification of the responsible gene expression is involved in the etiology of MFS exhibiting haploinsufficiency.

研究分野：発生工学

キーワード：ブタ 遺伝子改変動物 常染色体優性遺伝病 ハプロ不全 マルファン症候群モデル エピジェネティクス CpG shore メチル化修飾

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

医学研究における「橋渡し研究」の重要度の高まりと相まって、ヒトとの生理・解剖学的類似性が高いブタを用いた研究の意義が認識されるようになった。特に、遺伝子改変技術を用いてヒトの難病や稀少疾患の病態を再現する疾患モデルブタが作られるようになり、その利用に大きな期待が寄せられている。ブタの疾患モデルは、げっ歯類のモデルに比して、よりヒトに近い病態を現すことや、ヒトに用いられる外科的手技や機器の使用に適した体格の大きさを備えていることなど、従来のげっ歯類モデルの様々な欠点を補う存在と目されている。このようなブタの疾患モデルの長所を最大限に活用するためには、その病態発現の機序の理解や制御が重要である。我々はこれまでに遺伝子ノックアウト(KO)による疾患モデルブタを多数作出している。例えば Dystrophin 遺伝子や共通鎖遺伝子など X 連鎖遺伝子を KO すると、雄個体にはデュシェンヌ型筋ジストロフィーや重症複合免疫不全症などの表現型が確実に現れる。つまり、X 連鎖遺伝子の変異を原因とする疾患のモデルブタは、作出が比較的容易であると言える。一方我々は、常染色体優性遺伝病に分類されるマルファン症候群モデルでは、責任遺伝子である Fibrillin 1 (*FBN1*) の片アレルに同一の変異を有する個体群に、様々な病態の差が生じることを認めている。これは、マルファン症候群患者の発症時期や症状の重篤度が個人毎に様々である(可変的な表現)ことと一致する。以上のような知見や我々自身の経験から、常染色体遺伝子が責任遺伝子で、発症時期や症状にばらつきのある疾患のモデル作出においては、その病態発現を規定する要因や機序を明らかにする研究が不可欠であるとの着想に至った。

2. 研究の目的

常染色体優性遺伝病において、正常アレルのみからの発現量では遺伝子産物量が不足するために発症するものはハプロ不全(Haplo-insufficiency)と呼ばれる。ハプロ不全では同一の変異アレルを持つ家系内に、発症の様態の異なる個人が生じる。その理由は原因遺伝子の塩基配列のみからは十分説明できないため、発症の有無に浸透度、発症組織の違いなどに表現度といった遺伝学用語を当てはめて、統計的な確率論として議論してきた。浸透度、表現度という発症確率論的な概念は、遺伝カウンセリングなどでは重要であるが、発症メカニズムの解明や治療法の確立につながる可能性は低い。マルファン症候群において、同一変異アレルを持つ家族の患者毎に重篤度や発症組織の違いがあり(Pyeritz, 2000 Annu Rev Med 51, 481-510)、この表現型のバラツキは正常アレルからの発現量の多寡と相関すること、つまり *FBN1* のハプロ不全が発症を決定していることが示唆されている(Hutchinson 他, 2003 Hum Mol Genet 12, 2269-76)。同様に我々が作出した *FBN1* 変異ブタの系統内にも、正にハプロ不全を想起させる病態のバラツキが見られている。さらにその病態発現のバラツキが、体細胞クローニングによる個体生産や胚の体外培養などの、エピジェネティック変異の誘導要因として知られる人為的操作に連累して現れていることを示唆する結果も得ている。以上から我々は、ハプロ不全によって発症する疾患では、責任遺伝子の片アレル変異と、正常アレルの発現に対する負のエピジェネティック修飾が偶然に重なり合ったときに発症するのではないかと仮説を立てた。

ほ乳類の遺伝子の約半数は、プロモーター領域に CpG アイランドと呼ばれる CG 配列に富んだ領域を持っており、その外側の領域との境界部は CpG shore と呼ばれる(Irizarry et al., 2009 Nat Genet 41, 178-86)。本研究の分担者である大鐘らは CpG shore での組織特異的な DNA メチル化状態が遺伝子発現に重要であることを発見した(Imamura et al., 2001 76, 117-25)。さらに、CpG shore には、当該遺伝子に対する組織・細胞種特異的な制御に加えて、確率論的に低メチル化または高メチル化に変動する、一種の“ゆらぎ”のような現象が見られることも見出している(Yagi et al., Genome Res 2008 18(12):1969-78., 図1)。本研究では、マルファン症候群モデルである *FBN1* 変異ブタを材料として、ハプロ不全の発症機序を正常アレルの高メチル化に焦点を当てて解明すると同時に、病態発現の人為的制御の可能性を検証する。

3. 研究の方法

(1) ヘテロ *FBN1* 変異クローン細胞株からヘテロ *FBN1* 変異クローン個体の作出

ブタ胎仔線維芽細胞(雄)に *FBN1* の exon 10 を標的とする Zinc Finger Nuclease を導入してヘテロ *FBN1* 変異クローン細胞株(+/*Glu433AsnfsX98*)を樹立し、この細胞を用いて変異クローン胚を作出した。2頭のレシピエントへは1-2日齢の *in vitro* 培養クローン胚(初期胚)を移植し、2頭のレシピエントへは5-6日齢の *in vitro* 培養クローン胚(胚盤胞胚)を移植し、ヘテロ *FBN1* 変異クローン個体を作出した。

(2) *FBN1* プロモーター領域の解析

ブタ組織および新生仔尾部線維芽細胞よりゲノム DNA を抽出し、バイサルファイト処理後に *FBN1* CpG shore を増幅するプライマーを用いて PCR を行った。バイサルファイト PCR 産物をクローン化し、サンガー法での配列決定によりクローン化したアレルごとの CpG shore での DNA メチル化状態を解析した。

(3) *FBN1* CpG island に一塩基多型を有するブタの同定

FBN1 変異ブタとは系統の異なる野生型ミニブタのゲノム DNA から *FBN1* CpG shore をゲノム PCR により増幅して *FBN1* 変異ブタの配列と比較し、野生型ミニブタの CpG shore を区別することが

できる一塩基多型 (SNP) を同定した。

(4) アリルを区別した DNA メチル化解析が可能なヘテロ *FBN1* 変異ブタの作出

FBN1 CpG shore 内に SNP を有する雄性ミニブタの精子をサンプリングし、発情同期化した雌性ヘテロ *FBN1* 変異ブタの卵管へ注入して後代産仔を作出した。誕生した新生仔の尾部線維芽細胞を培養し、ヘテロ *FBN1* 変異 F1 と野生型 F1 の細胞を樹立した。

(5) アリルを区別した DNA メチル化解析が可能なヘテロ *FBN1* 変異ブタのメチル化解析

これらの線維芽細胞を培養し、ゲノム DNA および全 RNA を抽出した。抽出したゲノム DNA よりバイサルファイト PCR を行い、CpG shore 内に同定した SNP を利用して *FBN1* 変異アリルとミニブタ野生型アリルを区別した DNA メチル化解析を行なった。抽出した全 RNA については、ランダムヘキサマーによる逆転写後にエキソン内の一塩基欠失部位を利用して *FBN1* 変異 mRNA とミニブタ野生型 mRNA を区別した RT-PCR による発現解析を行なった。

(6) ホモ *FBN1* 変異ブタの作出

ヘテロ *FBN1* 変異ブタの表現型を確認したところ、マルファン症候群に関連する病態を発現しない個体が多数確認された。そこで、ヘテロ *FBN1* 変異ブタ同士との自然交配によりホモ *FBN1* 変異ブタを作出してその表現型を確認し、*FBN1* に加えた変異により病態が発症する事を確認した。

(7) shRNAi 発現ブタの作出

ヘテロ *FBN1* 変異ブタではマルファン症候群に関連する病態を発現しない個体を確認され、ヘテロ *FBN1* 変異ブタでは重篤すぎる病態を発現する事が確認された。本研究では *FBN1* の発現量がヘテロ *FBN1* 変異個体とホモ *FBN1* 変異個体の中間となる個体の作出を、短ヘアピン RNA (short hairpin RNA; shRNA) 発現ベクターの導入により試みた。

4. 研究成果

(1) ヘテロ *FBN1* 変異クローン細胞株からヘテロ *FBN1* 変異クローン個体の作出

4 頭のレシピエントより合計 19 頭のクローン産仔を得た。これらの産仔中、胚盤胞で移植した胚由来の 8 頭の中 4 頭では、新生仔期にマルファン症候群に関連する表現型 (上行大動脈弾性板の断裂、骨端の石灰化遅延、漏斗胸、口蓋裂) が見られた。一方、初期胚で移植した胚由来の 11 頭では、新生仔期には病変を示さず、成長期以降 (5 ヶ月齢) に脊椎側弯症や漏斗胸を示す個体 2 頭が確認された。残る 13 頭は、12 ヶ月齢までの観察期間内にマルファン症候群に関連する病変を現さなかった。このように、作出したクローン産仔は同一の遺伝子変異と遺伝的背景を有するにも関わらず、多様な表現型を示した。このことは、マルファン症候群の発症動態が同一家系内でも多様であることと類似している。従って、我々が作出したヘテロ *FBN1* 変異ブタは、エピジェネティック修飾と表現型の関連を明らかにする、本研究の目的に適したモデルであると判断される。

(2) *FBN1* プロモーター領域の解析

FBN1 プロモーター CpG shore での細胞腫特異的 DNA メチル化状態および初期発生過程での DNA メチル化動態を明らかにするために、生殖細胞および初期発生胚での DNA メチル化状態を検討した。その結果、卵での高メチル化が受精後の初期発生過程で初期化による脱メチル化を受け、その後の器官形成期に向けて再メチル化を受けることが明らかになった (図 1)。これらの結果と成体組織での解析結果を合わせて原著論文 (Arai et al., 2017 J Reprod Dev 63:157-65) として発表した。

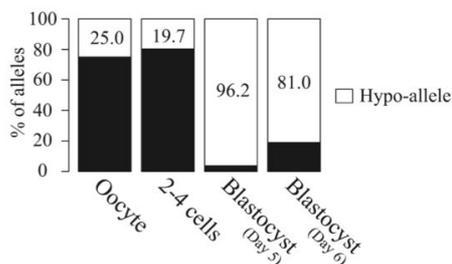


図 1 ブタ初期胚での *FBN1* プロモーターの DNA メチル化状態の変化

未受精卵 (Oocyte) では、*FBN1* プロモーターは高メチル化状態であるが、受精後 5 日目の胚盤胞期 (Blastocyst Day5) までの核初期化により脱メチル化され、低メチル化アリル (Hypo-allele) の割合が増加する。その後 (Blastocyst Day6) に新たなメチル化が始まることで、再び低メチル化アリルの割合が低下することが明らかになった。

(3) *FBN1* CpG island に一塩基多型を有するブタの同定

正常 *FBN1* と変異 *FBN1* のそれぞれのアリルでのプロモーター領域のメチル化状態を検討するため、まず *FBN1* 変異ブタとは系統の異なる野生型ミニブタの *FBN1* CpG shore をゲノム PCR により増幅した。野生型ミニブタの *FBN1* CpG shore 配列を決定し、*FBN1* 変異ブタの配列と比較した。その結果、CpG shore での DNA メチル化解析で *FBN1* 変異アリルと野生型ミニブタアリルを区別することができる SNP を同定した (図 2)。

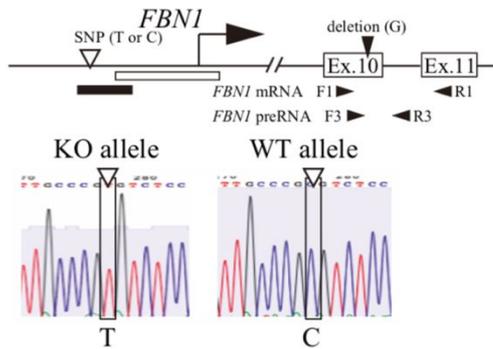


図2 *FBNI* 変異アリル (KO allele、エキソン 10 に G の一塩基欠失あり) とミニプタ正常アリル (WT allele) での SNP 探索
FBNI 転写開始点上流の CpG shore (黒いバー) 内に KO アリルで T、WT アリルで C となっている SNP を同定した。白いバーは CpG アイランドを示す。

(4) アリルを区別した DNA メチル化解析が可能なヘテロ *FBNI* 変異プタの作出
ヘテロ *FBNI* 変異プタと SNP を同定した野生型ミニプタ系統を交配させ、F1 新生仔の尾部より抽出したゲノム DNA を用いてアリルを区別できることを確認した。これにより、ヘテロ *FBNI* モーターCpG shore 内の SNP で正常・変異アリルを区別できる F1 のヘテロ変異個体を得た。(一部のヘテロ変異個体からマルファン症候群と関連していると推測される表現型が得られた。)

(5) アリルを区別した DNA メチル化解析が可能なヘテロ *FBNI* 変異プタのメチル化解析
FBNI プロモーターCpG shore に SNP を有するヘテロ *FBNI* 変異 F1 個体について、新生仔の尾部より *FBNI* を高発現する線維芽細胞を樹立した。プロモーターSNP の確認が取れたヘテロ変異細胞株について、バイサルファイトシーケンス法により正常・変異アリルを区別した DNA メチル化解析を行った。その結果と *FBNI* mRNA 量との相関を解析したところ、正常アリル CpG shore の低メチル化アリル割合と *FBNI* mRNA 量が正に相関することが示唆された(図3左パネル)。また、ヘテロ *FBNI* 変異細胞では *FBNI* mRNA 量が野生型細胞に比べて低く、細胞株間でも発現量が大きく異なっていた。ヘテロ変異細胞での *FBNI* の転写について、スプライシング前の核内前駆 RNA 量は野生型細胞と同程度だったのに対して、成熟 mRNA 量は野生型細胞に比べて低い傾向にあった(図3右パネル)。このことから、変異アリル由来の *FBNI* 転写産物はスプライシング後に分解されており、細胞としての *FBNI* mRNA 量は正常アリルの DNA メチル化によって調節されると考えられる。このことは、遺伝子発現低下を伴うハプロ不全遺伝病の発症にエピジェネティクスが関与することを示唆するものであり、従来の遺伝学での配列の相違に加えて、エピジェネティクスの概念がハプロ不全優性遺伝病の発症機序解明に重要であると考えられる。

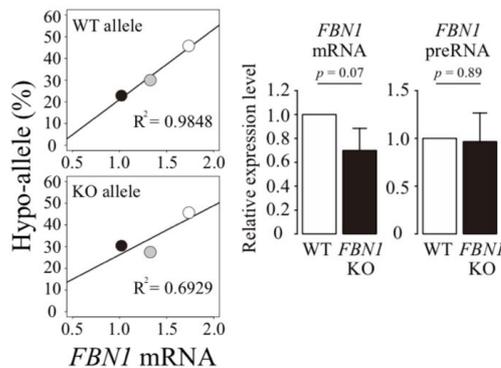


図3 ヘテロ *FBNI* 変異細胞株での低メチル化アリルの割合と mRNA 量の相関
(左)三個体から樹立したヘテロ *FBNI* 変異線維芽細胞株(白、グレー、黒で各細胞株をプロット)について、アリルを区別して低メチル化度合いと mRNA 量を解析した。その結果、上の正常アリル(WT allele)と mRNA 量では、発現可能と考えられる低メチル化アリルの割合が多い個体で mRNA 量も多かったことから、非常に強い正の相関が見られた。これに対して、下の変異アリル(KO allele)と mRNA 量ではそれほど強い相関が見られなかった。

(右)図2の *FBNI* 変異アリルで一塩基欠失があるエキソン 10 について、成熟 mRNA と核内前駆 RNA (preRNA) を区別して RT-PCR を行なった。その結果ヘテロ *FBNI* 変異細胞 (*FBNI* mut) では mRNA 量は野生型細胞 (WT) に比べて低かったが、核内前駆 RNA については野生型細胞とほとんど差がなかった。このことから、*FBNI* 変異アリルからの RNA は、核内での転写後に分解されたと考えられる。

(6) ホモ *FBNI* 変異プタの作出
誕生したホモ *FBNI* 変異プタでは、何らかのマルファン症候群患者と類似の病変(上行大動脈の拡張、上行大動脈解離、動脈弾性板の断裂、水晶体転位、リボジストロフィ、指趾関節の過可動性など)が確認された。しかし、マウスのホモ *FBNI* 変異モデルと同様に、ホモ *FBNI* 変異プタの病状は重篤で、最長 8 週齢までしか生存できなかった。

(7) shRNAi 発現プタの作出
in vitro 試験で *FBNI* mRNA がノックダウンしている事が確認出来た shRNA 発現ベクターをヘテロ *FBNI* 変異雄性個体から得た精子に結合させ、Intracytoplasmic sperm injection-mediated gene transfer (ICSI-MGT) により遺伝子導入した。作製した ICSI 胚を合計 4 腹の代理母豚へ移植した。1 頭は妊娠初期(Day34)で胎子を回収し、解析を実施したが、shRNA ベクターを有する胎子は退行胎子であった。残り 3 頭は妊娠途中で流産してしまい、分娩まで至らなかった。shRNA の発現により、胎生致死になったと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

Arai Y, Umeyama K, Takeuchi K, Okazaki N, Hichiwa N, Yashima S, Nakano K, Nagashima H, Ohgane J.

Establishment of DNA methylation patterns of the Fibrillin1 (FBN1) gene in porcine embryos and tissues.

J Reprod Dev. 2017. doi: 10.1262/jrd.2016-158. 査読有り、オープンアクセス

Umeyama K, Watanabe K, Watanabe M, Horiuchi K, Nakano K, Kitashiro M, Matsunari H, Kimura T, Arima Y, Sampetean O, Nagaya M, Saito M, Saya H, Kosaki K, Nagashima H, Matsumoto M.

Generation of heterozygous fibrillin-1 mutant cloned pigs from genome-edited foetal fibroblasts. Scientific Reports 2016, 6:24413. doi:10.1038/srep24413. 査読有り、オープンアクセス

Arai Y, Fukukawa H, Atozi T, Matsumoto S, Hanazono Y, Nagashima H, and Ohgane J. Ultra-Deep Bisulfite Sequencing to Detect Specific DNA Methylation Patterns of Minor Cell Types in Heterogeneous Cell Populations: An Example of the Pituitary Tissue. PLoS One 11(1): e0146498. doi: 10.1371/journal.pone.0146498. (2016) 査読有り、オープンアクセス

竹内健太、牧野智宏、新井良和、大鐘潤

ハプロ不全優性遺伝病発症の新たな視点：分子メカニズムとしてエピジェネティクスが関与する可能性

明治大学農学部研究報告 第65巻4号：96-103 (2016) 査読有り、オープンアクセスではない

〔学会発表〕(計39件)

梅山一大、飛田公理、中野和明、武藤智之、山田猛、戎谷力也、松成ひとみ、渡邊将人、長嶋比呂志

変異 FBN1 遺伝子ブタにおける肢指関節および心臓血管異常、第66回日本実験動物学会総会、2019年

梅山一大

変異 FBN1 遺伝子ブタの表現型 Marfan 症候群病態との比較、第6回日本先進医工学ブタ研究会、2018年

A. J. Kim, K. Umeyama, A. Hulin, R. J. Vagnozzi, E. A. Green, H. Nagashima, K. E. Yutzey

Comparative analysis of mouse and pig models of Marfan syndrome unveils an inflammatory micro-environment and macrophages as novel features of myxomatous valve disease. 5th Mid-America Valve Conference, 2018年

武藤智之、梅山一大、内倉鮎子、岡本一駿、徳山雄紀、中野和明、松成ひとみ、渡邊将人、長屋昌樹、長嶋比呂志

マルファン症候群モデルブタの病態発現制御、第111回日本繁殖生物学会大会、2018年
新井良和、梅山一大、岡崎なつみ、隠地健斗、福川斐昭、高澤建、西野光一郎、長嶋比呂志、大鐘潤

アリルごとの DNA メチル化に着目したハプロ不全優性遺伝病の発症機序解明に向けた新たな試み：ブタフィブリリン 1 (FBN1) を例として、第111回日本繁殖生物学会大会、2018年

A. J. Kim, A. Hulin, K. Umeyama, R. J. Vagnozzi, H. Nagashima, K. E. Yutzey

Immunogenic extracellular matrix remodeling and macrophage contributions to heart valve disease in genetic mouse and pig models of Marfan syndrome. 33rd National MD/PhD Student Conference, 2018年

Ohgane J., Arai Y., Takeuchi K., Okazaki N., Nakano K., Matsunari H., Watanabe M., Umeyama K., Nagashima H.

DNA METHYLATION AS AN EPIGENETIC MODIFIER OF THE FBN1 TRANSCRIPTION. 10TH INTERNATIONAL RESEARCH SYMPOSIUM ON MARFAN SYNDROME AND RELATED DISORDERS, 2018年

Umeyama K., Arai Y., Nakano K., Uchikura A., Watanabe M., Matsunari H., Saito M., Saya H., Matsumoto M., Nagaya M., Ohgane J., Nagashima H.

PHENOTYPE OF HOMOZYGOUS FIBRILLIN-1 (FBN1) MUTANT PIGS. 10TH INTERNATIONAL RESEARCH SYMPOSIUM ON MARFAN SYNDROME AND RELATED DISORDERS, 2018年

K. Umeyama, Y. Arai, K. Nakano, T. Fukuda, I. Umeki, A. Uchikura, Y. Kasai, H. Matsunari, M. Nagaya, M. Watanabe, J. Ohgane and H. Nagashima

Phenotypic variation in the cloned pigs with heterozygous fibrillin-1 mutation. 4th World Congress of Reproductive Biology. 2017年

長嶋比呂志

マルファン症候群モデルブタの開発. 第 64 回日本実験動物学会総会、2017 年

大鐘潤、新井良和

アレルごとの DNA メチル化状態に注目したエピジェネティクス解析の新たな試み. 2017 年
日本農芸化学会年会、2017 年

梅山一大, 新井良和, 中野和明, 内倉鮎子, 渡邊将人, 松成ひとみ, 齋藤正寛, 木村徳宏,
渡邊航太, 堀内圭輔, 北城雅照, 有馬好美, サンペトラオルテア, 小崎健次郎, 佐谷秀行,
松本守雄, 長屋昌樹, 大鐘潤, 長嶋比呂志

変異型 fibrillin-1 遺伝子を有するブタの上行大動脈の病理解析. 第 57 回日本脈管学会総
会、2016 年

新井良和, 梅山一大, 竹内健太, 八島紗耶香, 中野和明, 長嶋比呂志, 大鐘潤

ハプロ不全優性遺伝病の発生機序解明に向けた新たなアプローチ: ブタフィブリリン 1
(FBN1). 第 109 回日本繁殖生物学会、2016 年

Nagashima H.

Pig model of rare monogenic diseases. 18th International Congress of Animal
Reproduction, SALAAM-Workshop, 2016 年

梅山一大, 新井良和, 中野和明, 内倉鮎子, 渡邊将人, 松成ひとみ, 齋藤正寛, 佐谷秀行,
松本守雄, 長屋昌樹, 大鐘潤, 長嶋比呂志

ホモ変異型 fibrillin-1 遺伝子を有するブタの表現型. 第 48 回日本結合組織学会学術大会、
2016 年

Nagashima H.

Combining breeding and advanced reproduction techniques for regenerative medicine.
Plant and Animal Genome Asia 2016、2016 年

梅山一大, 渡辺航太, 渡邊将人, 堀内圭輔, 中野和明, 北城雅照, 松成ひとみ, 長屋昌樹,
松本守雄, 長嶋比呂志

ゲノム編集ブタにおけるヘテロ変異 fibrillin-1 遺伝子の後代への伝達と発現. 第 63 回日
本実験動物学会総会、2016 年

M. Matsumoto, K. Watanabe, K. Horiuchi, K. Umeyama, H. Nagashima

Generation of FBN1 gene knockout pig model for Marfan syndrome, Scoliosis Research
Society presents 50th Annual Meeting & Course, 2015 年

笠井悠里, 梅山一大, 渡邊将人, 中野和明, 松成ひとみ, 内倉鮎子, 武石透輝, 畑江将太,
浅野吉則, 長屋昌樹, 渡辺航太, 堀内圭輔, 松本守雄, 長嶋比呂志

Fibrillin-1 遺伝子ノックアウトによる Marfan 症候群モデルブタの開発、第 108 回日本繁
殖生物学会大、2015 年

梅山一大, 渡辺航太, 渡邊将人, 堀内圭輔, 中野和明, 松成ひとみ, 長屋昌樹, 松本守雄,
長嶋比呂志

Zinc finger nuclease による fibrillin 1 遺伝子ヘテロノックアウトクローンブタの作出、
第 47 回日本結合組織学会学術大会、2015 年

〔図書〕(計 2 件)

- 1) Watanabe M, Nagashima H: Genome editing of pig. In: Genome Editing in Animals: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology). Vol. 1630: Humana Press; 2017: 121-139.
- 2) 渡邊将人, 長嶋比呂志: ブタでのゲノム編集. 実験医学増刊, 羊土社、34(20):175-179, 2016

〔その他〕

日刊工業新聞 2017 年 2 月 21 日 1 面に掲載

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 大鐘 潤

ローマ字氏名: Ohgane Jun

所属研究機関名: 明治大学

部局名: 農学部

職名: 専任准教授

研究者番号(8桁): 50313078

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。