



Title	Generation of knockout rabbits with X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID) using CRISPR/Cas9
Author(s)	橋川, 美子
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/81922
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	橋川 美子
論文題名 Title	Generation of knockout rabbits with X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID) using CRISPR/Cas9(CRISPR/Cas9システムを用いたX連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID) ウサギの開発)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 ウサギはマウスに比べ大型な為手術が比較的容易で、長期観察可能な前臨床試験に適した実験動物である。本研究ではCRISPR/Cas9システムにて移植免疫に重要なインターロイキン2受容体γ鎖 (<i>Il2rg</i>) 遺伝子をターゲットとしたX-SCID KOウサギの開発を試みた。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 ウサギ<i>Il2rg</i>遺伝子のエクソン2にgRNAをデザインし、自然交配したウサギより採卵、Cas9 mRNA、gRNAを前核にインジェクションし、その胚を偽妊娠ウサギへ移植した。得られた産仔からシーケンス解析により変異個体を同定し、F2のヘミ (<i>Il2rg</i>⁻/<i>Y</i>) 個体、WT (<i>Il2rg</i>⁺/<i>Y</i>) 個体を用い、体重測定、血液一般性状、T細胞・B細胞のFACS解析を行った。また剖検後、胸腺の有無を確認した。その結果、移植した438個の受精胚から52匹の産仔が得られ、14匹の変異個体を確認された。25週齢までの体重測定では、WT個体の体重が増加傾向であるのに対しヘミ個体は15週頃から体重増加率が低下した。血液一般性状では、全ヘミ個体でリンパ球減少が認められ、FACSではT細胞 (WT9.6%、ヘミ0.2%)、B細胞 (WT11.8%、ヘミ-0.05%) となり、ヘミ個体で有意に低下した。剖検の結果、全ヘミ個体で胸腺が低形成である事を確認した。 〔総 括(Conclusion)〕 <i>Il2rg</i>遺伝子をターゲットとして作製したX-SCIDウサギは免疫不全である事が予想され、移植実験等において有用である事が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 橋川 美子

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 西 岡 幸 二 雷
	副 査	大阪大学教授 石 井 優 希
	副 査	大阪大学教授 辻 川 元 一

論文審査の結果の要旨

ヒト組織や細胞の評価には、マウスに比べ大型な為手術が比較的容易で、長期観察可能な前臨床試験に適した実験動物であるウサギの免疫不全動物モデルが有用であると考えた。そこで、本研究ではCRISPR/Cas9システムにて移植免疫に重要なインターロイキン2受容体 γ 鎖 (*Il2rg*) 遺伝子をターゲットとしたX-SCIDウサギの性状評価と安定的な系統維持を行ったものである。本X-SCIDウサギは血液一般性状、T細胞・B細胞のFACS解析、胸腺・脾臓の確認、皮膚の他家移植を行った結果、免疫不全状態を呈していた。また、F1～F4世代までの系統維持を行い、安定してX-SCIDウサギを得る事が可能であった。この開発したX-SCIDウサギは臓器・細胞移植、ガン、造血系分野でのヒトへの橋渡し研究を活性化させる優れたツールとして大きく貢献できるものである。

上記のような理由から、本研究は学位に値するものと認める。