

遺伝子ノックアウトマウス作製デザインが全自動でできるウェブツール”KOnezumi”の開発

研究成果のポイント

1. 遺伝子ノックアウトマウス作製のために必要な情報が全自動で手に入る Web ツール”KOnezumi”を開発しました。
2. 時間と労力のかかる複数のノックアウトマウス作製デザインが瞬時に完成します。
3. 本ツールを用いることで、さらに多くの研究者がノックアウトマウスを作出し、医学生物学研究が加速されることが期待されます。

国立大学法人筑波大学 医学医療系および生命科学動物資源センターの久野朗広助教、水野聖哉准教授、高橋智教授の研究グループは、遺伝子欠損(ノックアウト)マウス作製デザインが全自動でできるウェブツール”KOnezumi”を開発しました。

ノックアウトマウスは、生体での遺伝子の働きを解析できるため多くの生命科学研究で広く利用されている実験動物です。また近年のCRISPR/Cas9を筆頭としたゲノム編集技術の発展によってノックアウトマウスを作製する効率が格段にあがったため、今後さらに多くの研究者が幅広い分野でノックアウトマウスを作製・活用することが期待されています。しかし、ゲノム編集の進展に比べて「ゲノムのどこを編集すればよいのか」、「切断した遺伝子は翻訳されるのか」などの課題は依然としてマウス作製に熟練した専門家が考える必要があり、時間と労力がかかる作業でした。

そこで本研究グループは、研究者が興味のある遺伝子名を入力するだけでその遺伝子をノックアウトするために必要な情報を全自動で入手できるWebツール”KOnezumi”を開発しました。KOnezumiは利用者が興味のある遺伝子名を入力するだけで、ノックアウトマウス作出のために必要な情報を瞬時にレポートします。また、従来の方法では大変な手間がかかっていた複数の遺伝子に対するノックアウトマウス作出戦略の構築にも対応しています。KOnezumiの利用によってさらに多くの研究者がノックアウトマウスを作製することで、医学生物学研究のさらなる発展が期待されます。

本ツールは下記の筑波大学動物資源センターのサイトで一般に公開されています。

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/LabAnimalResCNT/KOanimals/konezumi.html>

本研究の成果は、2019年02月06日付「*Bioinformatics*」で先行公開されました。

- * 本研究は、文部科学省新学術領域が助成する先端モデル動物支援プラットフォーム(研究期間:平成28~33年度)、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)が助成する老化メカニズムの解明・制御プロジェクト(研究期間:平成29~33年度)および上原記念生命科学財団のサポートによって実施されました。

研究の背景

遺伝子ノックアウトマウス^{注1}は生体での遺伝子の働きを直接的に調べることができるため、特定の遺伝子が関わる生体機能の解析や疾患メカニズムの解明などの生物医学研究で幅広く利用されています。また近年のゲノム編集技術^{注2}の急速な進歩により、ノックアウトマウスを作製するために必要な時間とコストが劇的に減少しているため、ますます多くの研究者が遺伝子ノックアウトマウスを作製する機会が増加しています。

しかし、ゲノム編集技術の劇的な進歩に比べて、ノックアウトマウスの具体的な制作技術については煩雑さが解消されていませんでした。すなわち、「どこのゲノムを編集すればノックアウトマウスが作製できるのか」「切断されたDNAは翻訳されるのか」など、ノックアウトマウスを作製するために必須な情報については依然としてマウス遺伝学の専門的な知識と経験を持つ研究者がひとつひとつの遺伝子について調べる必要があり、大変な手間と労力がかかっていました。そこで本研究では、遺伝学に詳しくない研究者や技術者でも質の高いノックアウトマウスが作製できるように、ノックアウトマウス作製に必要な情報を全自動で提供するサービスの構築を目標として研究に取り組みました。

研究内容と成果

ゲノムの編集する部位を探すため、本研究グループは国際マウス表現型解析コンソーシアム/国際ノックアウトマウスコンソーシアム^{注3}の公開データから、それぞれの遺伝子をノックアウトするために推奨されているゲノム領域を抽出しました。本研究はこのゲノム情報およびこれまでに開発されたツールを統合して、利用者の興味のある遺伝子名(複数遺伝子の入力が可能)を送信するだけでノックアウトマウス作製に必要な情報である「遺伝子の切断部位」「切断するために必要な gRNA 配列^{注4}」「ノックアウトされたことを確認するためのプライマー配列^{注5}」「切断部位のDNA 配列」および「切断されたあとにおこる DNA 配列の変異情報」の 5 つをレポートする Web ツール、KOnezumi を作製しました。KOnezumi はノックアウトマウス作製に特化した初の Web ツールであり、その利用の簡便さや複数の遺伝子に対応するデザインができる点が特徴です。レポート結果は Web 上で確認することができるほか、結果をダウンロードし再利用することが可能です。

本研究で開発した Web ツールは筑波大学動物資源センターのサイトにて一般公開されています。

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/LabAnimalResCNT/KOanimals/konezumi.html>

今後の展開

これまでにゲノム編集をサポートするさまざまなツールが開発されてきましたが、研究者はそれら各々のツールの使い方を学ぶ必要がありました。また、ツールの中にはプログラミングスキルを必要とするものもあるなど、依然として敷居の高いものでした。

KOnezumi を用いることでノックアウトマウス作製に必要な情報が簡単に入手できるようになるため、今後より多くの研究者、技術者が KOnezumi を利用して効率的にノックアウトマウスを作製し、医学生物学研究に貢献することが期待されます。

参考図

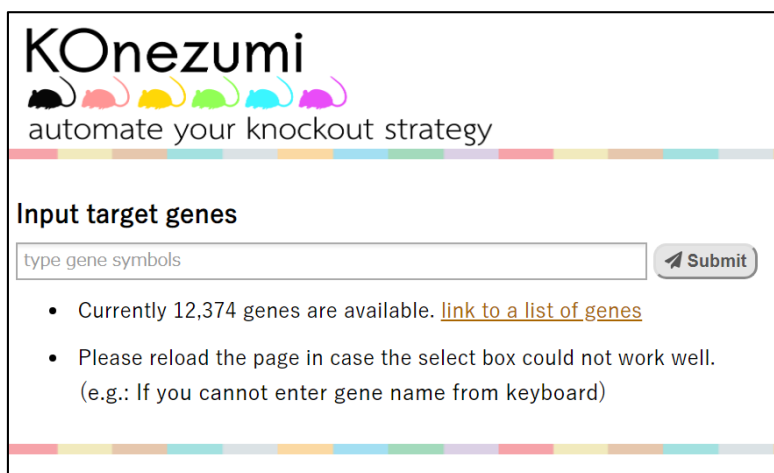


図1: KOnezumi トップページ

利用者は興味のある遺伝子名（複数の入力に対応）を入力し、投稿するだけでよい。

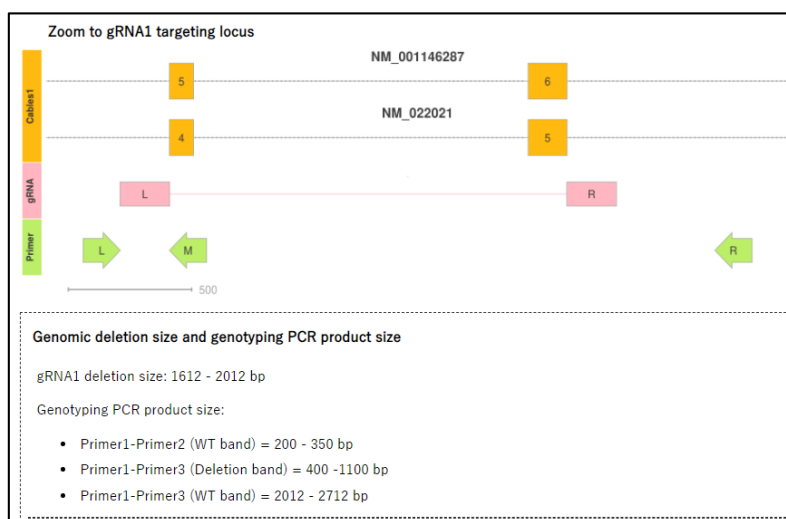


図2 KOnezumi レポートの一部

遺伝子の切断部位とその長さなどの情報が表示されている。

用語解説

注1) 遺伝子ノックアウトマウス

特定の遺伝子を欠損(ノックアウト)させた実験マウス。特定の遺伝子が生体でどう働いているのかを調べるために利用されている。

注2) ゲノム編集技術

ゲノムの特定の部位を狙って目的の変異を入れる技術。近年著しく発展した CRISPR-Cas9 技術が代表例であり、従来に比べ簡便、短時間、低コストでゲノムを編集することができる。

注3) 国際マウス表現型解析コンソーシアム(IMPC)/国際ノックアウトマウスコンソーシアム(IKMC)

マウスの全遺伝子に対するノックアウトマウスを作製することを目標に結成された世界的プロジェクト。IKMC はそれぞれの遺伝子をノックアウトした ES 細胞を樹立し、IMPC でその細胞からマウスを作製して表現系を解析する。

注4) gRNA 配列

DNA 切断酵素 Cas9 をゲノムの特定の位置に誘導する塩基配列。Cas9 が切れやすい塩基配列と逆に切れにくい塩基配列が知られており、KOnezumi は切れやすい配列に Cas9 を誘導する gRNA 配列を表示する。

注5) プライマー配列

誕生したノックアウトマウスの遺伝子型を検査するときに使われる塩基配列。目的の遺伝子がきちんとノックアウトがされたのかを確認することができる。KOnezumi は特異性の高いプライマー配列を表示する。

掲載論文

- 【題名】 KOnezumi: a web application for automating gene disruption strategies to generate knockout mice
(ノックアウトマウス作製デザインが全自動でできるウェブツール”KOnezumi”の開発)
- 【著者名】 Akihiro Kuno, Seiya Mizuno and Satoru Takahashi
- 【掲載誌】 Bioinformatics
doi: 10.1093/bioinformatics/btz090

問い合わせ先

久野 朗広 (くの あきひろ)

筑波大学 医学医療系 解剖学発生学研究室 助教
〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1

水野 聖哉 (みずの せいや)

筑波大学 医学医療系 実験動物学研究室 准教授
〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1

高橋 智 (たかはし さとる)

筑波大学 医学医療系 解剖学発生学研究室 教授
〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1