

次世代NOG系統における経時的な糞便細菌叢解析



○ 野津量子¹、山口貴弘²、三村卓²、西脇恵²、小倉智幸¹、高橋利一¹
¹公益財団法人 実中研、²日本クレア株式会社 富士山生育場

The gut microbiota analysis of next generation NOG mice at each week of age

○ Ryoko Nozu¹, Takahiro Yamaguchi², Suguru Mimura², Megumi Nishiwaki²,
Tomoyuki Ogura¹, Riichi Takahashi¹

¹Central Institute for Experimental Medicine and Life Science, ²CLEA Japan, Inc. Fujiyama Breeding Facility

目的

我々は本学会において、NOG-hGM-CSF/hIL-3 Tg (NOG-EXL)、NOG-hIL-6 Tg (NOG-IL6) およびNOG-MHC class I, II KO (NOG-ΔMHC) の各系統における7週齢と26週齢の体重、臓器重量および血液生化学値の比較データを報告した (JALAS 2022)。今回は同時期に採取した糞便に52および70週齢の糞便を加え、同一施設で飼育されている各系統および週齢において糞便細菌叢構成に差異があるかを確認する目的で、次世代シーケンサーを用いた糞便細菌叢解析を実施した。また、これらの背景であるNOGについても同様に解析し、次世代NOGと糞便細菌叢構成に差異があるかどうかを評価した。

材料・方法

マウス：NOG、NOG-EXL、NOG-hIL-6、NOG-ΔMHC 雌雄各5匹

採糞週齢：7、26、52および70週齢

糞便DNA抽出法：ビーズ・フェノクロ法

DNA増幅領域：16S rRNA遺伝子 V4領域

次世代シーケンサー：MiniSeq (イルミナ)

菌叢解析：QIIME2 ver. 2021.2

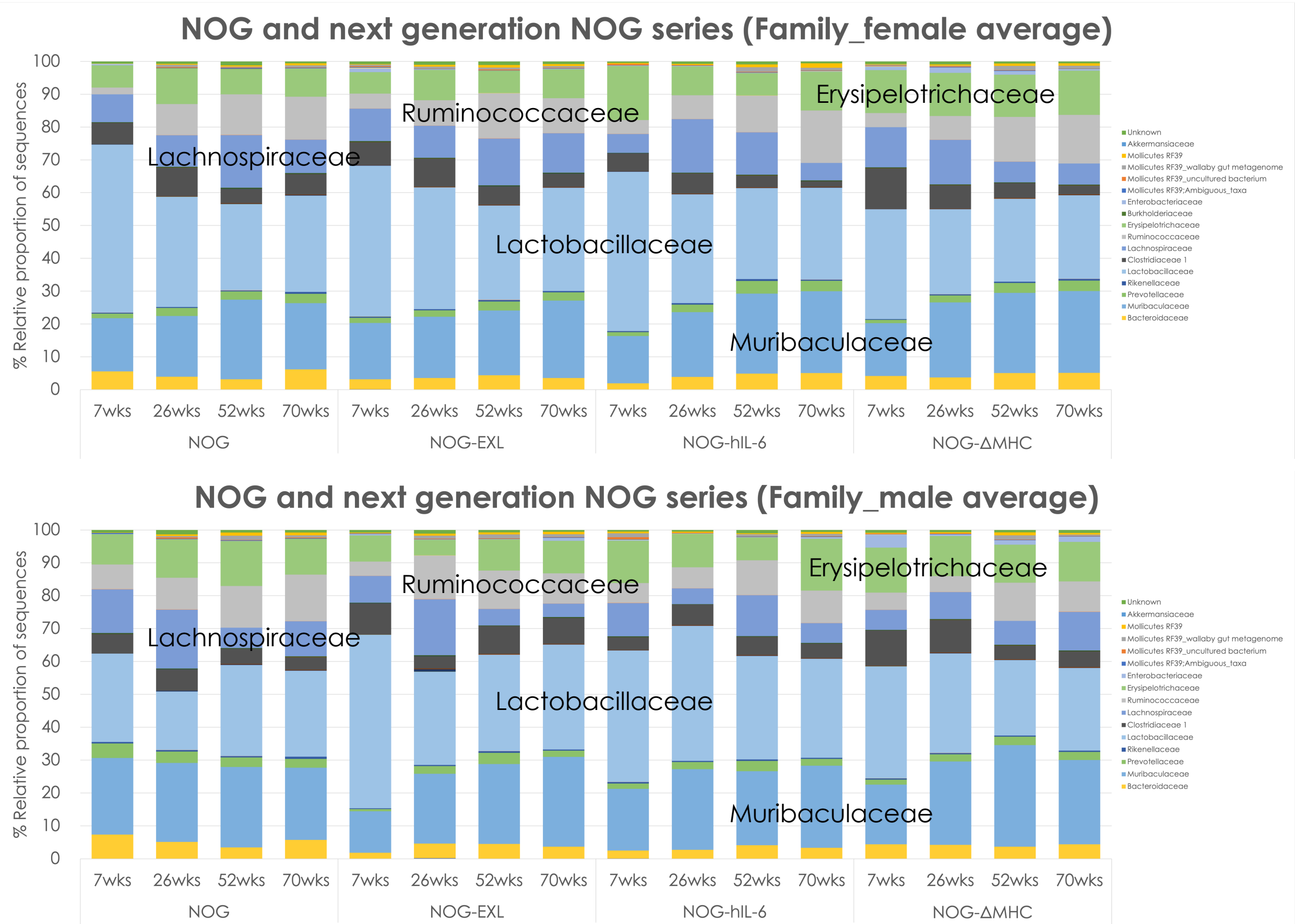
denoising：DADA2

参照配列：SILVA 132 release

多様性の可視化：R ver. 4.1.3

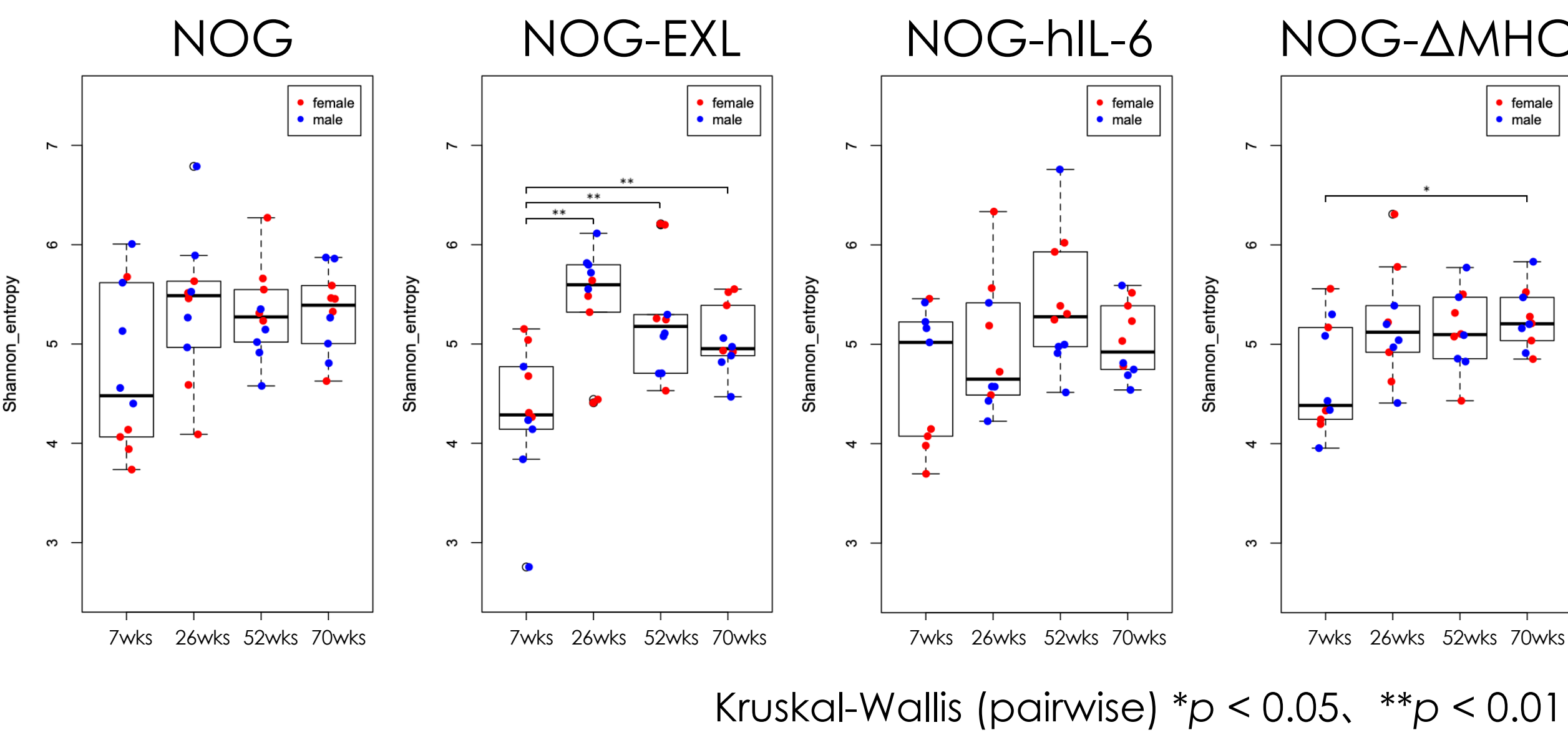
糞便細菌叢解析

腸内細菌叢構成 (科レベル)



α-多様性解析 (腸内における菌種の豊富さ解析)

α-多様性指数：Shannon指数 (サンプル全体に対する種の割合に基づいて計算される。種が多く、それぞれの種が均等に存在すると、指標は高くなる。)

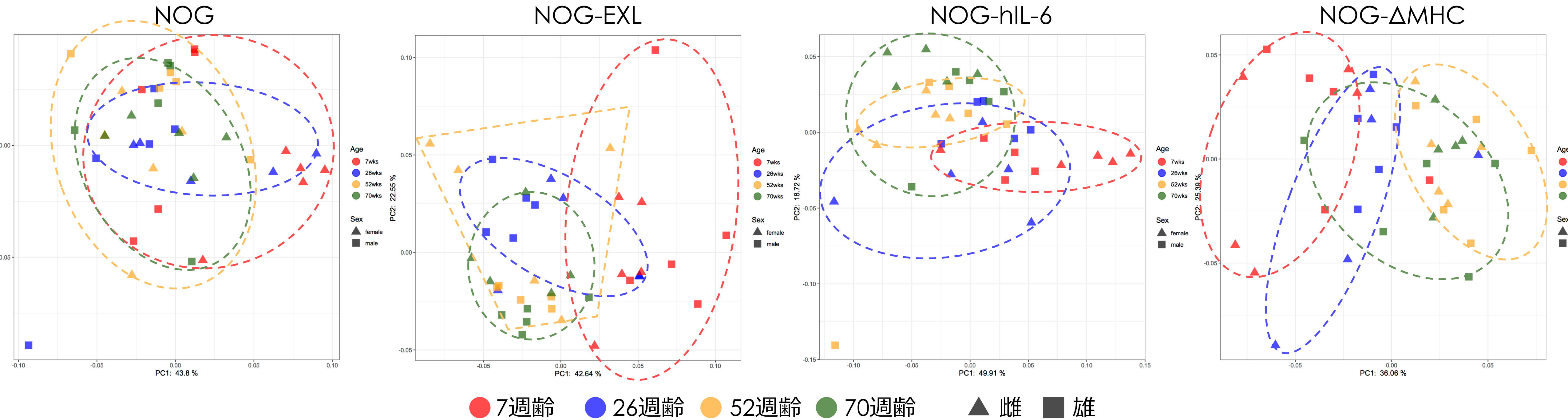


NOG-hIL-6を除く系統で7週齢での多様性が低い傾向が認められた。

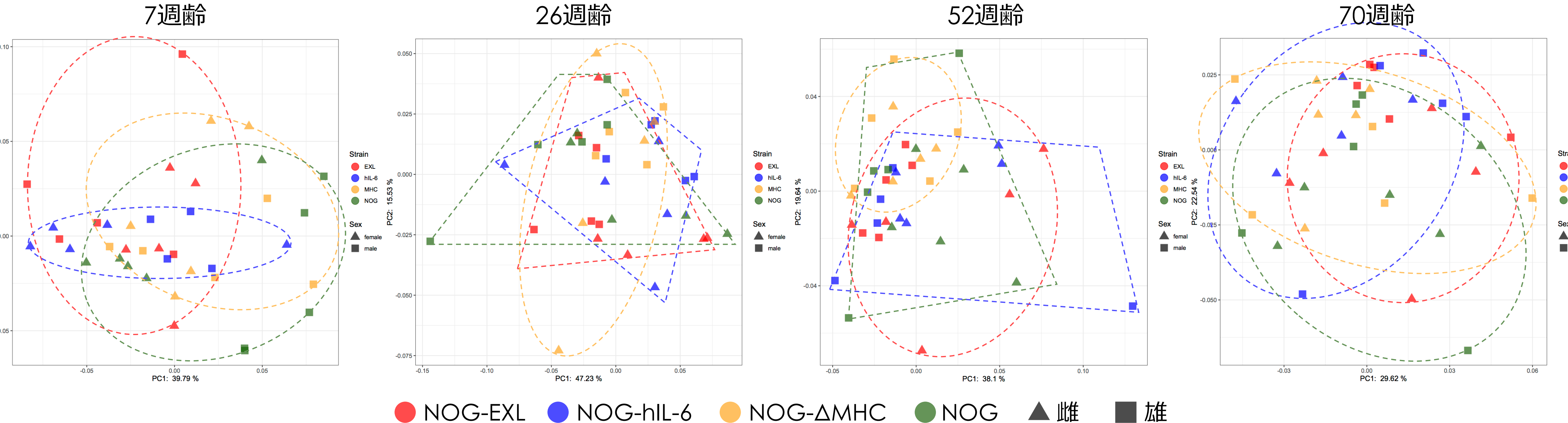
β-多様性解析 (個体間および群間での菌叢構成の類似性解析)

β-多様性指数：Weighted UniFrac距離 (系統発生距離を考慮した構成菌種の在・不在とその種数データに基づく)

系統別



週齢別



次世代NOG系統においては、加齢に伴う緩やかな菌叢変化が認められた。一方、NOGにおいては、週齢変化における変動はほぼ認められなかった。週齢ごとの解析においては、各系統に特徴的なクラスターを認めることはなく、すべてのマウス系統において、加齢に伴う菌叢構成変化に大きな差異は認められなかった。

まとめ

実験動物の腸内細菌叢構成は、生育されている施設間によって菌叢構成が異なることが知られているが、今回、**同一施設において飼育されている背景が同一の系統においては、菌叢構成が大きく異なることが示された**。また、7週齢の菌叢構成は他の週齢とは異なる傾向があることから、**腸内細菌叢試験では従来から言われている通り、8週齢以上の使用が推奨されることが示された**。

本研究は日本クレア株式会社動物実験委員会の審査を経た後、社長の承認を得て実施されました (承認番号：2158-019MBF)。また、本発表に関連し、開示すべきCOIはありません。



本ポスターデータはこちら