

# ゲノム編集による ヒト神経疾患モデルメダカの作製と創薬応用

SATテクノロジー・ショーケース2018

## ■ はじめに

近年、生物のゲノム解析が進んだことで、多くの疾患原因因子が解明されています。また、何十万という多種の化合物をすばやく合成する技術の確立により、疾患の原因因子を標的としたin vitro(細胞外)での分子標的スクリーニングが現在主流となっています。しかし、in vitro分子標的スクリーニングで活性が認められた化合物が、in vivo(細胞内)では活性が認められない場合が多くあり、最近では細胞等を用いた表現型スクリーニングが再注目されるようになってきました。この表現型スクリーニングは培養細胞だけでなく、マウスなど生物の個体にも適用することが可能です。

生物個体を用いて表現型スクリーニングをおこなうメリットとしては、①行動異常の表現型をもつ神経疾患モデル動物を作製してスクリーニングに用いることで、行動異常の治療薬の開発が可能であること、②標的とした組織以外への影響も調べることが容易であること、などが挙げられます。しかし、マウスのような小型動物であっても多量の化合物が必要となるうえに、飼育に膨大なコストがかかってしまうため、大規模なスクリーニングに適用することは困難です。加えて、近年は動物愛護の観点から、哺乳類動物の使用に関する規制が強化されています。そのため、安価かつハイスループットなスクリーニング技術の開発が必要とされています。産総研では飼育コストが安価で、スクリーニングに用いる胚を多く得ることができる国産の小型魚類メダカを用いて、創薬スクリーニングのための基盤技術の開発をおこなっています。

## ■ 活動内容

### 1. ゲノム編集技術によるヒト神経疾患モデルメダカの作製

パーキンソン病は脳の特定の神経細胞が減少することにより、ふるえや筋肉の固縮、姿勢保持障害などの運動障害がみられる疾患です。神経伝達物質であるドーパミンを補充することでこれらの症状は一時的に改善しますが、病気の進行そのものを抑えることはできません。最近の研究によりゴーシェ病の原因遺伝子であるglucocerebrosidase (GBA) 遺伝子の変異がパーキンソン病の生涯罹患リスクに関係することがわかってきました。そこで、GBA変異メダカが作製され病態が詳細に解析された結果、パーキンソン病の一端が再現・解明されました(Uemura et al.,2015)。しかし、このGBA変異メダカはゲノムにランダム変異を生じさせることで作製された変異体ラ

イブラリから発見されたものであるため、GBA以外の遺伝子領域にも変異があり、創薬スクリーニングに用いる際に懸念事項となります。そこで、私はゲノム編集技術を用いてGBAのみに変異を持つパーキンソン病・ゴーシェ病モデルメダカを作製しました。

### 2. ゲノム編集技術によるノックイン系統メダカの作製

メダカでは、CRISPR/Cas9を用いてゲノムに高効率で外来遺伝子を組み込むノックイン技術が開発されています(Murakami et al.,2017)。この方法を利用することで、GBA遺伝子領域に蛍光タンパク質であるGFPをノックインし、本来GBA遺伝子のはたらいしている領域でGFPを検出できるメダカを作製しています。このメダカに治療薬の候補となる化合物を投与すると、蛍光を発する組織を時間を追って観察することができ、創薬スクリーニングにおいて強力なツールとなることが期待されます(図)。

## ■ 関連情報等(特許関係、施設)

特許第5110580号(2012/10/19) リンパ管可視化トランスジェニックメダカ及び該メダカを用いたリンパ管新生阻害薬のスクリーニング法

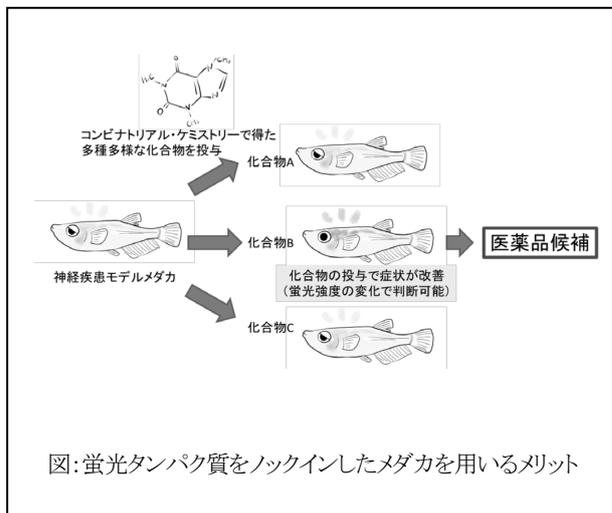


図: 蛍光タンパク質をノックインしたメダカを用いるメリット

代表発表者 脇 華菜(わき かな)  
所属 産業技術総合研究所  
先端ゲノムデザイン研究グループ  
問合せ先 〒563-8577 大阪府池田市緑丘 1-8-31  
TEL: 072-751-9601  
waki-k@aist.go.jp

■キーワード: (1)ゲノム編集  
(2)神経疾患  
(3)創薬

■共同研究者: 出口 友則(産業技術総合研究所)