

化学物質が中枢神経系の発生へ与える影響を解析するための
ノックインゼブラフィッシュの開発
Knock-in zebrafish for evaluation of the effects of chemicals on
development of the central nervous system

1200233 田部井 輝侑

Teruyuki Tabei

アルコールをはじめとして様々な化学物質がヒト胚の発生、特に中枢神経系の発生に影響を与えることが懸念されている。本研究では、ゼブラフィッシュ胚を利用して、化学物質が中枢神経系の発生へ与える影響をイメージングを通して解析するシステムの構築を目指している。この研究では、中枢神経系の発生過程をモニターするのに適した遺伝子に、蛍光タンパク質の遺伝子をノックインすることで、経時的なイメージングを可能にするトランスジェニックゼブラフィッシュを作成する予定である。そこで第一の研究として、中枢神経系の領域化に重要な役割をもつ転写因子である Pax2a, Otx2b, Hesx1 の遺伝子への蛍光タンパク質遺伝子のノックインを計画した。まず上記3つの遺伝子に関して、ノックイン部位となるストップコドン周辺のゲノム DNA 配列を TL 系統ゼブラフィッシュで調べ、CRISPR システムを用いたゲノム編集を行うための配列データを得た。次に、それぞれの遺伝子に対して複数の crisprRNA を設計し、CRISPR-Cas9 による切断効率をゼブラフィッシュ胚で調べたところ、ノックインに使用可能な crisprRNA を見いだすことができた。これらの実験と並行して、イメージング実験の基礎となる情報を得るため、上記3つの遺伝子に関して、胚へのアルコール曝露が発現パターンに与える影響を *in situ* hybridization により調べている。