

卒業論文要旨

ゼブラフィッシュ *pax6a* のノックインおよびノックアウトラインの作成

1220200 漆原 舞

Knock-in and knockout lines of zebrafish *pax6a*

Mai Urushihara

Pax6 は中枢神経系、眼、鼻、腭臓、脳下垂体の発生に重要な進化的に保存された転写因子の一つである。ゼブラフィッシュは、オーソログとして *pax6a* と *pax6b* をもつが、それぞれに特異的な抗体を作成することは難しく、タンパク質機能の解析を難しくしている。CRISPR-Cas9 を用いてゲノム上の *pax6* に複合タグ配列をノックインすると、複合タグを利用することでタンパク質機能の解析が容易になることが期待できるため、*pax6a* に対するノックインが行われた。

本研究では、まずノックインアレルを生殖細胞に持つ F0 魚と野生型魚との交配によって得られた F1 魚の遺伝型の決定を尾びれのゲノム DNA を用いて行った。その結果、約 23.5%の割合でノックインアレルを持つ F1 魚が存在した。ノックインアレルをヘテロ接合型に持つ F1 魚どうしを交配し、得られた F2 胚の遺伝型を調べたところホモ接合型にノックインアレルを持つ胚がメンデルの分離比で確認できた。また、遺伝型を調べた F1 魚の中には、CRISPR-Cas9 によって生じた indel により遺伝子の機能が失われるノックアウトが引き起こされている可能性のあるアレルが見いだされた。そこで、この indel により実際にノックアウトアレルとなっているのかについても調べている。