

卒業論文要旨

CRISPR-Cas9/Cas12aを利用したゼブラフィッシュ*cathepsin Lb*遺伝子クラスターの機能解析

1230197 梅園 理玖

Riku Umezono

## Functional analysis of the zebrafish *cathepsin Lb* gene cluster using CRISPR-Cas9/Cas12a

Cathepsin L(CTSL)は、リソソームにおけるタンパク質分解を担うシステインプロテアーゼの一種で、魚類、鳥類、哺乳類などの脊椎動物から無脊椎動物に至るまで幅広い動物種で見いだされる。Cathepsin Lは、正常なタンパク質の代謝回転に必要で、ヒトではその発現の低下や亢進が肺気腫や癌などの疾患と関連している。ゼブラフィッシュ *ctsl1b* は、ヒト *Cathepsin L* のオーソログ遺伝子の1つで、中胚葉脊索前板や孵化腺の発現マーカー遺伝子として多用されている。また、ゼブラフィッシュでは13個の *ctsl1b* 類似遺伝子が隣接してゲノム上に並んで *ctslb* クラスターを形成しているが、この遺伝子群の胚発生過程における機能はよく分かっていない。これまでの研究では、*ctsl1b* のノックアウトを意図しないgRNAを持つCRISPR-Cas9複合体を顕微注入した胚で発生の異常が見られたが、それが *ctslb* クラスターの機能阻害によるものであるかは明瞭ではなかった。そこで本研究では、CRISPR-Cas9と新たにCRISPR-Cas12aを用いて *ctslb* クラスターのノックアウトを意図したgRNAを複数作製した。これらのCRISPR-Cas9/Cas12a複合体を顕微注入したところ、以前のgRNAと同様の発生異常が見られた。したがって、*ctslb* クラスター遺伝子はゼブラフィッシュの発生に必要だと考えられる。