ミニシンポジウム記録 水産物におけるゲノム編集の現状と展望

2. 水産・医薬モデルメダカの作出

木下政人

京都大学大学院農学研究科

2. Generation of genome engineered medaka as a model for fisheries and medical science

MASATO KINOSHITA

Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan

ゲノム編集技術によりモデル生物はもとより、非モデル生物を用いても任意の遺伝子の破壊やゲノム上の任意の部位での遺伝子の書き換え・外来遺伝子の導入が可能となった。既に複数の魚種でもゲノム編集の有効性が報告されている。¹⁻³⁾ 本発表では、ゲノム編集技術を用いた、水産学（水産業）や医学・創薬へのメダカの応用について話題提供する。

1. 水産への応用

魚類におけるゲノム編集技術では、TALENやCRISPR/Cas9などのRNAを受精後間もない卵にマイクロインジェクション法などで導入することが一般的であり、設計したTALENやガイドRNAの有効性を評価するには、少なくとも数日を必要とする。しかし、養殖魚の産卵期間は限られ、その期間内に多くのTALENやガイドRNAを評価することは困難であり、また、成魚までの生育に長期間を要し、狙った遺伝子の破壊の評価にも長期間を必要とする。一方メダカは毎日周年産卵するため受精卵の確保が容易で、世代期間も数ヶ月と短い。養殖魚に用いるTALENやガイドRNAの効率的な設計と選抜に、このようなメダカの利点の活用を試みている。これまでに、マダイ、トラフグおよびメダカを用いて、ゲノム上の相同な配列をターゲットにCRISPR/Cas9システムを用いて遺伝子破壊を行ったところ、遺伝子破壊が誘導され易い、あるいは、誘導され難い部位がこの3魚種において共通することが見いだされた。また、標的となる遺伝子を破壊した場合の表現型や二次的効果（副作用的効果）を短期間で見極めることが可能なこともメダカの利点である。このようにメダ

カを使って養殖魚の限られた産卵期間を有効に使うことが可能となると考えられる。

2. 医薬への応用

ゲノム解読の進展、低コスト、ハイスループットが可能なこと等から小型魚類が医学・創薬の分野でもモデル生物として注目されている。メダカやゼブラフィッシュでは、これまでに疾患原因遺伝子過剰発現型ヒト疾患モデル⁴⁾あるいはTILLING法を用いた遺伝子破壊型ヒト疾患モデル⁵⁾が作製されてきた。ゲノム編集技術により、より簡便に遺伝子を破壊することが可能となり、今後小型魚類を用いたヒト疾患モデルの作製がますます盛んになると考えられる。一例として、これまで単一の遺伝子を破壊することでは思うようなヒト疾患モデルになり得なかったものに、ゲノム編集技術を用い容易に他の遺伝子破壊を付加できる。つまり、複数のTALENまたはCRISPR/Cas9を一度に用いて複数の遺伝子破壊を行なうことが可能となり、あるいは、既存の遺伝子破壊系統や過剰発現系統に新たな遺伝子破壊を誘導することが容易になった。ヒト疾患モデルメダカの作製やそれをもとにした疾患メカニズムの解明・治療薬の開発が進んでいくと考えられる。

文 献

- 1) Ansai S, Kinoshita M. Targeted mutagenesis using CRISPR/Cas system in medaka. *Biology Open*. 2014; **3**: 362-371.
- 2) Hwang WY, Fu Y, Reyon D, Maeder ML, Tsai SQ, Sander JD, Peterson RT, Yeh JR, Joung JK. Efficient genome editing in zebrafish using a CRISPR-Cas system. *Nature Biotechnology*. 2013; **31**: 227-229.
- 3) Edvardsen RB, Leininger S, Kleppe L, Skaftnesmo KO, Wargelius A. Targeted mutagenesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) using the CRISPR/Cas9 system induces complete knockout individuals in the F0 generation. *PLoS One*. 2014; **9**: e108622.
- 4) Xi Y, Noble S, Ekker M. Modeling neurodegeneration in zebrafish. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2011; **11**: 274-282.
- 5) Matsui H, Gavinio R, Asano T, Uemura N, Ito H, Taniguchi Y, Kobayashi Y, Maki T, Shen J, Takeda S, Uemura K, Yamakado H, Takahashi R. PINK1 and Parkin complementarily protect dopaminergic neurons in vertebrates. *Hum. Mol. Genet.* 2013; **22**: 2423-2434.