

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 31 年 4 月 16 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 大分大学医学部細胞生物学講座  
職 名 教授  
研究代表者 花田 俊勝

下記のとおり平成30年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:18008 )

1. 共同研究課題名	RNA 代謝に関連する疾患の分子機構解明		
2. 共同研究目的	tRNA 代謝機構に関与する CLP1 の遺伝子変異は、神経変性疾患症候群の原因となるが、その発症機構は明らかになっていない。ゼブラフィッシュは発生工学的手法の簡便さと神経発生の可視化が可能であるため、神経変性疾患の研究には有益なモデルである。ゼブラフィッシュ研究のエキスパートである石谷太教授との共同研究により、本疾患の分子機構の一端を明らかにする。		
3. 共同研究期間	平成30年 4月 1日 ~ 平成31年 3月31日		
4. 共同研究組織			
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者) 花田 俊勝	大分大学医学部 細胞生物学講座	教授	研究の総括
(分担研究者) 白石 裕士 波田 一誠 井上 真紀 八塚 洋之	同上 同上 同上 同上	准教授 助教 大学院生 大学院生	遺伝子改変モデルの作成・解析 遺伝子改変モデルの作成・解析 遺伝子改変モデルの作成・解析 遺伝子改変モデルの作成・解析
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	個体統御システム	氏 名 石谷 太

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

## 6. 共同研究計画

個体統御システム分野において、CRISPR/Cas9 によるゲノム編集を用いた遺伝子改変ゼブラフィッシュの樹立とその解析を行う。ゼブラフィッシュにおける CRISPR/Cas9 による効率的な遺伝子改変技術について、石谷教授の研究グループは研究手法を確立しており、これまで多くの遺伝子改変ゼブラフィッシュを樹立した実績がある。本共同研究において、RNA の設計、受精卵へのマイクロインジェクション、その後の飼育方法について指導を仰ぐ。

本研究ではまず、ヒト CLP1 変異をもつ橋小脳低形成患者より見出された異常な RNA 断片が、実際に疾患発症に関与するかゼブラフィッシュ胚にマイクロインジェクションして検証を行う。また、CLP1 以外の RNA 代謝関連遺伝子で、遺伝性神経変性症候群の原因遺伝子として報告されているものがある。これらの分子について、遺伝子改変ゼブラフィッシュを作成して病態機構の解析を行う。

## 7. 共同研究の成果

CLP1 変異により生じ神経変性を惹起すると予想された複数種の RNA 断片について、ゼブラフィッシュ胚にマイクロインジェクション後、胚発生を観察したところ、チロシン tRNA より生じる RNA 断片において神経変性を伴う胚発生異常を確認した。p53 のアンチセンスオリゴと同時にインジェクションすることによってその胚発生異常がレスキューされることから、この RNA 断片による神経変性は p53 依存的な神経細胞死であることが示唆された。また、この RNA 断片に結合する分子の探索と同定を行い、病態メカニズムの一端を明らかにした。本研究は現在投稿準備中である。

CLP1 以外の橋小脳低形成の原因遺伝子であり RNA 代謝に関与する分子について遺伝子ノックアウトゼブラフィッシュモデルの作成を行った。Exosome complex を構成しその遺伝子変異により小頭症を発症する EXOSC8 をはじめ合計 7 種の遺伝子について CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集により順調にモデルが完成し、現在表現型および病態分子機構の解明を進めている。

## 8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

### ①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

### ②この共同研究に基づくとの記載のある論文

1. 波田一誠、田中亮太、漆畑博太郎、井上真紀、白石裕士、花田俊勝  
神経変性疾患橋小脳低形成のモデルサカナの作製(第 91 回日本生化学会大会)
2. 八塚 洋之、波田 一誠、花田 俊勝  
RNA エキソソーム関連疾患の病態メカニズムの解明(第 41 回日本分子生物学会年会)