

ショウジョウバエを使用した統合失調症リスク因子の遺伝学的解析

座小田 俊亮 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 古久保-徳永 克男 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

統合失調症は全人口の約 1%が罹患すると言われる精神疾患である。その症状は大きく陽性症状と陰性症状に分けられる。陽性症状には幻覚や妄想、陰性症状には意欲や思考力の低下などが含まれる。また過去に一卵性双生児を対象に行われた研究により、統合失調症の発症には遺伝的要因と環境的要因の両方が関与していることがわかっており、さらに遺伝的要因については近年統合失調症患者を対象としたGWASなどの遺伝学的調査により多数のリスク遺伝子が候補としてリストアップされている。

最も有力なリスク遺伝子のひとつとして *DISC1* (*Disrupted in Schizophrenia 1*) が挙げられる。*DISC1* はスコットランドの統合失調症患者が現れやすい家系の遺伝学的解析により発見された遺伝子であり、様々なタンパク質と相互作用する可能性が示唆されている。

当研究室ではヒト *DISC1* を強制発現させたショウジョウバエを用いてその行動や形態の解析を行っている。ショウジョウバエはその全ゲノム塩基配列が解読されており、またヒトの間にも多くの相同な遺伝子を持つことが知られている。さらに、過去の研究からショウジョウバエの脳で *DISC1* を発現させると、学習や記憶、行動に異常が現れるということが明らかになった。

ショウジョウバエの NMJ (Neuromuscular Junction) において *DISC1* を発現させると、シナプス面積が減少することがわかっている。本研究では *DISC1* と相互作用するリスク遺伝子の特定を目的とし、変異遺伝子のもとに *DISC1* を発現させたショウジョウバエにおいてその NMJ の形態を観察、解析した。

材料と方法

1. 変異体のバランス化

♂: *mutant / mutant* or *mutant / balancer* (III)♀: *w / w*; *Sp / CyO Act-GFP*; *Pr Dr / TM6B Ubi-GFP*-*w / Y*; +/*CyO Act-GFP*; *mutant / TM6B Ubi-GFP*2. 変異体と *DISC1* の二重変異体の作成*DISC1* in heterozygous mutant background♂: *w / Y*; +/*CyO Act-GFP*; *mutant / TM6B Ubi-GFP*♀: *w / w*; *UAS-DISC1(CS10)6-6(II)*; *tubP-GAL4 / TM6B ubi-GFP*-*w / w* or *w / Y*; +/*UAS-DISC1(CS10)6-6(II)*; *mutant / tubP-GAL4*

Control

♂: *w / Y*; +/*CyO Act-GFP*; *mutant / TM6B Ubi-GFP*♀: *w / w*; +(*CS10*); *tubP-GAL4 / TM6B ubi-GFP*-*w / w* or *w / Y*; +/*(CS10)*; *mutant / tubP-GAL4*

3. 抗体染色

2 で採卵した後 116-120 時間後の 3 齢幼虫を解剖し、以下の抗体を用いて染色した。

Primary Antibody

Mouse anti-Synaptotagmin 1 : 3

Secondary Antibody

anti-HRP FITC 1 : 50

anti-mouse 633 1 : 50

4. 観察と解析

染色したサンプルを共焦点顕微鏡において観察、撮影した。撮影した写真を画像解析ソフト、Image J を用いて NMJ のシナプス領域の面積を計測した。

今後の展望

本研究ではリストアップされた遺伝子のうち第三染色体上のものからいくつか選んでスクリーニングを行った。今後は残りの候補遺伝子のスクリーニングを進めつつ、過去の研究とあわせて *DISC1* と強く相互作用する遺伝子についてはその機能や影響を研究していく予定である。

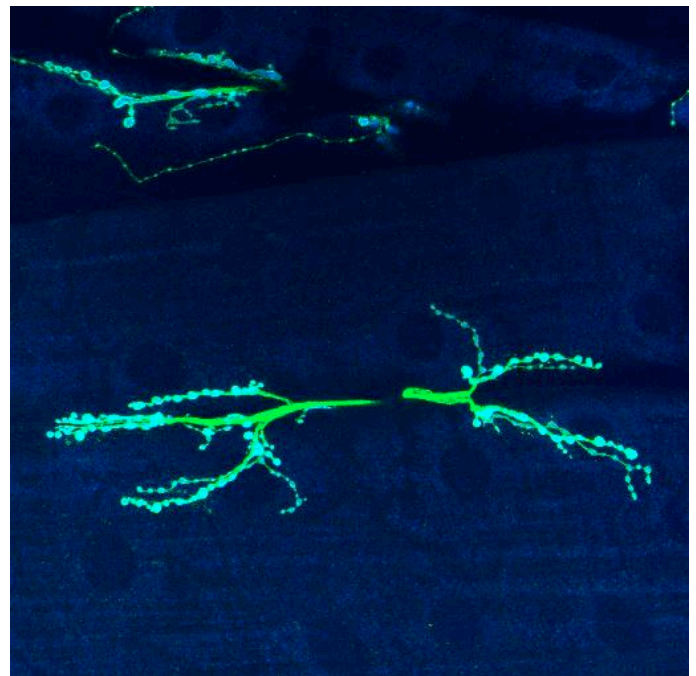


Figure 1. 共焦点顕微鏡によるショウジョウバエ幼虫の NMJ 撮影画像。anti-HRP(緑)。anti-Synaptotagmin(青)。