

簡易スプライシング定量法を用いた 認知症治療薬スクリーニングシステム

A drug-screening system for cognitive diseases
based on a simple measuring method of RNA splicing

村山 洋 准教授

麻布大学 生命・環境科学部 食品生命科学科 遺伝子科学研究室

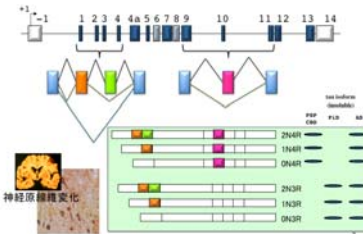
Ohoshi Murayama Associate Professor
School of Life and Environmental Science, Department of Food Life Science

概要

認知症や癌など多くの疾患の発症にRNAスプライシングが深く関与していることが明らかになっている。治療薬や診断薬の開発のためには、簡便なスクリーニング系を確立することが重要である。そこで、我々が開発したスプライシングカセットベクター(RNAスプライシングの動態をリアルタイムに評価することを目的として開発した技術:特願2007-38491; 下図の実用化に向けた研究を計画した。そのために必要なベクターの改良を行い、リアルタイム観察・定量の最適条件を決定する。具体的な標的としてアルツハイマー病など認知症の発症に深く関わるタウ遺伝子エキソン10を用い、そのスプライシング阻害剤のスクリーニングシステムの開発を進め、6ヶ月から2年以内の知財化を目指す。また、タウ遺伝子以外の遺伝子についても同様に応用可能かどうか検証する。

タウ遺伝子のスプライシング

6種類のアイソフォームが選択的スプライシングにより合成される。

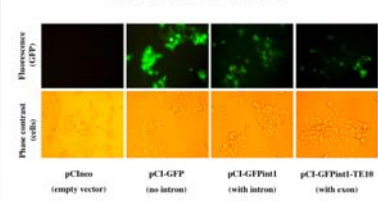


ベクターの特徴

ヒト遺伝子の選択的スプライシングの様子を蛍光タンパク質や発光タンパク質を用いて可視化し、生体または細胞を生かしたままで定量測定を可能としたベクターシステム。
基本的な組換え実験のみで全ヒト遺伝子に適用が可能な技術。
✓ スプライシングの動的変化の可視化が可能
✓ 導入遺伝子の構築が簡単
✓ 定量化(蛍光レポーター、RT-PCR)



Tau exon 10のスプライシング



知財活用を目的とした研究計画

独立行政法人科学技術振興機構
産学共同シーズイノベーション化事業(産学化ステージ)
新創且つ画期的な遺伝子発現機構の解析技術の開発
～RNAスプライシング機構の解析システムの構築～

神奈川県
バイオ関連研究シーズ事業化促進事業 研究報告書
RNAスプライシング機構を定量的に評価するための新しい解析ツール
の開発と応用

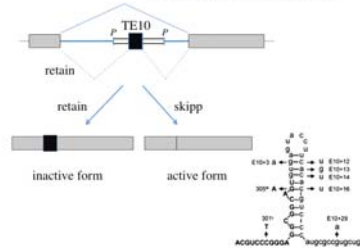
財団法人神奈川科学技術アカデミー
知的財産活用促進コーディネーター事業
アルツハイマー病関連遺伝子タウの選択的スプライシング解析キ
ットの開発

本技術に関する知的財産権

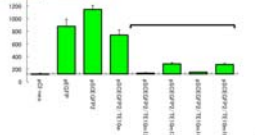
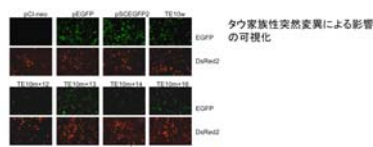
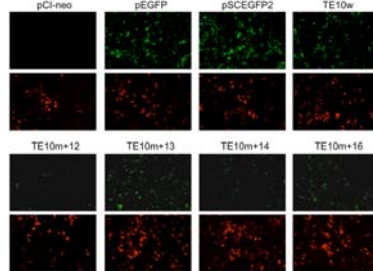
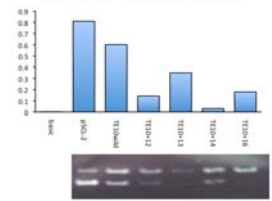
・RNAスプライシングの検出システム
・PCT/JP2008/053130 or PCT/JP2006/326200
・出願人 麻布獣医学園
・発明者 村山 洋

・標的配列の特異的高感度増幅法
・PCT/JP2006/326200
・出願人 麻布獣医学園
・発明者 村山 洋、上野 暁

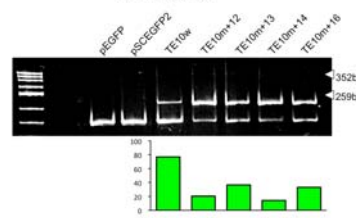
Tau exon 10カセット断片を挿入したベクター



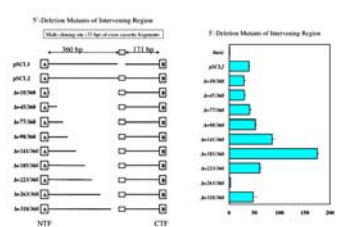
ルシフェラーゼアッセイの結果



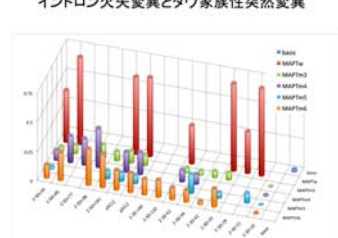
RT-PCRの結果



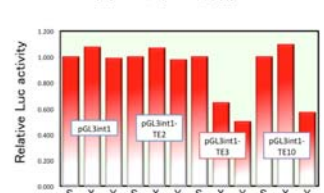
イントロン配列の欠失変異体



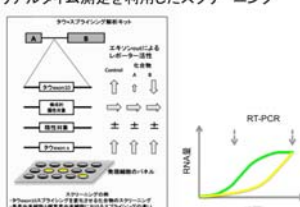
イントロン欠失変異とタウ家族性突然変異



エキソン特異的スプライシング阻害剤 スクリーニングへの応用



リアルタイム測定を利用したスクリーニング



用途

- ✓ 生体および生細胞を用いたスプライシングの動的かつ定量的観察
- ✓ スプライシングを標的とした医薬品のスクリーニング
- ✓ 基礎から応用までバイオ系の幅広い研究分野におけるスプライシング研究