

【目的】 ヒトなどの高等哺乳動物では大脳皮質は特に発達しており、発達期にその組織構築がダイナミックに変化しシワ（脳回）を形成する。進化における脳回の獲得は高次脳機能の発達の基盤であり、脳回異常疾患では著しい脳機能障害を呈することから、脳回の形成メカニズムおよび疾患病態の解明は神経科学の重要研究課題である。実際、脳回形成が障害され平滑な脳表面を示す疾患であるヒト滑脳症では、乳児期早期より難治性てんかんと重度の精神発達遅滞を伴う。このように、脳回形成とその異常により生じる脳機能障害に関する研究は、基礎神経科学のみならず臨床脳医学へも波及効果が大きい研究課題である。しかし分子遺伝学的研究に用いられるマウスの脳には脳回は存在せず、マウスを用いた解析が困難であるために脳回形成に関する研究は遅れている。イタチ科に属するフェレットは、脳回や眼優位性カラムなど高等哺乳動物に特徴的な発達した脳神経構築を持つことから形態学および生理学的研究に多く用いられてきたが、分子遺伝学的研究は解析手法が確立されておらず遅れていた。我々は、フェレットでの分子遺伝学的解析を可能とするために、子宮内電気穿孔法を応用しフェレット大脳皮質への遺伝子導入法を確立している。次の大きな課題は、*loss-of-function* 実験を行うための遺伝子ノックアウト技術の開発である。ZFN や TALEN に続く第三世代のゲノム編集ツールとして、近年、CRISPR/Cas9 システムが大きな注目を集めている。

【方法】 本研究では、子宮内電気穿孔法と CRISPR/Cas9 システムとを組み合わせることにより、大脳皮質において効果的な遺伝子ノックアウト法の確立を目指した。ヒト滑脳症の原因遺伝子として知られている *Cdk5* 遺伝子のノックアウトを行った。

【結果】 *Cdk5* に対する CRISPR/Cas9 プラスミド (pX330-Cdk5) を導入した結果、EGFP 陽性細胞の約半数で、*Cdk5* の機能が喪失し放射状移動が障害されていた。次に、フェレット脳回形成において *Cdk5* が重要であるかを調べるために、pX330-Cdk5 を導入した個体の組織学的解析を行った。その結果、pX330-Cdk5 を導入した個体では脳回の低形成が観察された。これらの結果から、*Cdk5* が脳回形成に必須であることが明らかとなった。

Cdk5 ノックアウトによる脳回形成異常

