

ROIS 戦略的研究プロジェクト 成果報告会 (第3期名称:未来投資型プロジェクト)

研究課題名:

モデル脊椎動物ゼブラフィッシュを用いたCOVID-19関連遺伝子ACE2の研究

2023年4月28日

研究代表者

所属 国立遺伝学研究所

氏名 川上 浩一

◆背景と研究目的

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）が細胞に侵入する際には、ウイルスがもつスパイク蛋白質（S蛋白質）が受容体angiotensin-converting enzyme 2（ACE2）に結合し、ウイルス粒子と細胞の融合が起こる。ヒトACE2遺伝子はX染色体上に位置し、上気道および肺の細胞に発現している。SARS-CoV-2がこれらの細胞に感染すると、肺炎（COVID-19）を引き起こす。またACE2は、十二指腸、胆嚢、腎臓、小腸、精巣などの臓器・器官でも発現することが知られている。SARS-CoV-2の感染による消化器における症状等も問題になってきている。SARS-CoV-2が引き起こす病態を理解するためには、ACE2遺伝子の発現メカニズムを理解することは重要である。

ゼブラフィッシュは、脊椎動物の生命現象を解析するためのモデル動物として世界中で研究に用いられている。本研究は、ゼブラフィッシュを用いて、ACE2の発現調節機構および生理的機能を明らかにすることを目的とする。さらには、本研究で作製するトランスジェニックゼブラフィッシュを用いてACE2発現を調節することができる低分子化合物を発見することにより、新しいCOVID-19の治療薬の創薬の可能性へ繋げることを目標とする。

◆国内外の類似・競合する研究との関係

本研究は、モデル脊椎動物ゼブラフィッシュを用いてACE2遺伝子の発現および機能解析を行い、最終的にはACE2遺伝子の発現を低下させる低分子化合物を同定することを目指すという、他に類をみない研究である。

◆本研究の意義

ACE2はSARS-CoV-2の受容体であるので、ACE2の発現を抑えることができれば、SARS-CoV-2の細胞への感染を防御できる可能性がある。すなわち、ACE2の発現を減じるような低分子化合物はCOVID-19の治療薬になる可能性がある。

COVID-19の治療薬は、ウイルスをターゲットにしたものは開発され使用可能であるが、受容体であるACE2の発現調節をターゲットにした創薬は存在しない。治療薬の選択のバリエーションが増えることは、必ずやパンデミックの終息に貢献すると期待する。また、ACE2はSARS-CoV-2だけでなく、SARS-CoV等他のコロナウイルスの受容体でもある。我々がACE2の発現調節薬を手にすることは、将来の未知のコロナウイルスの出現の備えにもなる。ワクチンは人類にとってCOVID-19への重要な対抗手段であるが、ウイルスの免疫回避変異株の出現のスピードに変異株対応ワクチンの開発が追いつかないような状況である。ACE2をターゲットにした創薬はそのような変異に対しても有効であると考えられる。

1) 研究の概要		<u>CRISPR/Cas9法を用いてACE2遺伝子座にリポーター遺伝子をノックインする</u> <u>ACE2遺伝子内にCRISPR/Cas9法を用いて、Gal4遺伝子をノックインし、ACE2の発現を視覚化する（Gal4-UAS法）。</u> <u>ACE2遺伝子のプロモーターのクローニングとトランスジェニックフィッシュの作製</u> ヒトおよびゼブラフィッシュACE2のプロモーター領域をクローニングしリポーター遺伝子（GFP遺伝子）に接続する。 <u>ACE2遺伝子の発現に影響を与える低分子化合物（薬剤）を発見する</u> <u>GFP遺伝子発現を低下させる低分子化合物のスクリーニングを行う。</u> <u>ゼブラフィッシュACE2遺伝子ノックアウト変異の作製と機能解析。</u> ACE2の遺伝子破壊変異を作製し、表現型解析、RNA-seqによるトランスクリプトーム解析を行う。					
2) 実施計画・実績		2020年度		2021年度		2022年度	
		FS (Feasibility Study) ★6/19 FS採択審査会 ★3/18 FS評価審査会(本研究採択)		本研究 ★ 1年目実績評価		★10/20 2年目成果報告会 ★ 最終成果報告書	
費用 (千円)	予算	1,000		2,400		3,000	
	執行	1,000		2,400		3,000	
実施者 (所属機関)		研究代表者: 川上浩一 (国立遺伝学研究所・発生遺伝学研究室) 共同研究者: 坂 季美子 (国立遺伝学研究所・発生遺伝学研究室) 白木 知也 (同上)、Arshyn Tlenshiyeva (同上)					
3) 研究成果の概要		<u>CRISPR/Cas9法を用いてACE2遺伝子座にリポーター遺伝子をノックインする</u> <u>ACE2遺伝子内にCRISPR/Cas9法を用いてGal4遺伝子をノックインしACE2発現を視覚化することに成功した（Gal4-UAS法）。</u> <u>ACE2遺伝子のプロモーターのクローニングとトランスジェニックフィッシュの作製</u> ヒトおよびゼブラフィッシュACE2のプロモーター領域をクローニングしGFP遺伝子に接続し、トランスジェニックフィッシュの作製に成功した。 <u>ACE2遺伝子の発現に影響を与える低分子化合物（薬剤）を発見する</u> GFP遺伝子発現を低下させる低分子化合物のスクリーニングを開始した。現在までに約8000化合物をテストした。 <u>ゼブラフィッシュACE2遺伝子ノックアウト変異の作製と機能解析。</u> ACE2の遺伝子破壊変異を作製に成功した。表現型解析、RNA-seqによるトランスクリプトーム解析を実施中である。					