

研究題目 網膜視覚伝達チャネルの転写制御解析

研究組織

研究代表者：小池千恵子（立命館大学薬学部）

共同研究者：竹本龍也（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：菅野茂夫（産業技術総合研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

中枢神経系網膜は5種類の神経細胞と1種類のグリア細胞から構成され、精緻な回路構造を形成することにより視覚情報処理を担う組織である。各々の神経細胞は特徴的な形態と機能を持ち、細胞分化と成熟に関わる分子には細胞特異的なものも多い。本研究では、網膜視覚情報チャネルに注目し、その転写制御メカニズムの解明を目的としている。申請者らは目的遺伝子の予測している領域が目的領域であることを確認するために、目的領域のゲノムを改変することにより証明することを目的としている。

[1-2]研究の方法・経過

目的遺伝子の発現制御を担う予測領域6箇所について、海外の共同研究者と共同でscATACseqやChIPseqにより結合する場所の絞り込みを行い、また網膜に6領域をバラバラに発現させることにより、目的細胞にレポーター遺伝子が発現するかどうか解析を行った。その結果、マスターレギュレーターが結合し、かつ実験的に目的細胞に特異的に発現しているものは1箇所であった。本領域に関しては菅野博士デザインのCRISPR/Cas9配列をマウス網膜に導入することにより、転写制御領域の特定行った配列が実際に目的ゲノムDNAを欠損させることができていることを、培養細胞にて確定したところである。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

[1-2]に記載したように、場所の特定を行いゲノム編集マウス作製のための準備を進めているが、個体化には至っていない。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

マウス網膜に特異的に発現する遺伝子発現制御のゲノム改変の効果を解析するためには、①網膜において各神経細胞細胞自体がサブタイプに分けるとごくわずかしかな存在しない、②特定の細胞への導入効率はかなり低いと考えざるを得ない、③上手くいったとしても、ランダムに欠損された各細胞における遺伝子発現の低下を確認するのは、artifactを伴う危険性がある、といった問題点があるため、ゲノム領域を欠損させたマウスを作製して確認することができれば、転写制御領域を特定することができるため、決定的な結果を得られるものと確信している。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

なし

[3-3]成果資料等

なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

次年度も引き続き共同研究を行い、個体化と解析を行う。