

令和 5 年度研究開発成果概要書

採 択 番 号 22101
 研究開発課題名 国際共同研究プログラムに基づく日米連携による脳情報通信研究（第 4 回）
 副 題 シンプルな神経系をもつホヤにおける単一ニューロンレベルでの神経回路解析

(1) 研究開発の目的

ユニークで強力な実験モデル動物であるホヤ（カタコウレイホヤ: *Ciona intestinalis*）において、神経回路解析のための計算ツールを生成し、普及させ、利用する。

(2) 研究開発期間

令和 3 年度から令和 6 年度（36 か月間）

(3) 受託者

国立大学法人大阪大学<代表研究者>

(4) 研究開発予算（契約額）

令和 3 年度から令和 6 年度までの総額 37 百万円（令和 5 年度 13 百万円）
 ※百万円未満切り上げ

(5) 研究開発項目と担当

- 研究開発項目 1 ホヤ幼生中枢神経系の単一細胞トランスクリプトーム解析
- 研究開発項目 1-1 神経系を可視化したホヤを用いた単一細胞トランスクリプトーム解析
 （国立大学法人大阪大学）
- 研究開発項目 1-2 バイオインフォマティクス解析（国立大学法人大阪大学）

- 研究開発項目 2 単一細胞トランスクリプトーム解析を基にした研究ツールの開発
- 研究開発項目 2-1 特定の細胞型で外来遺伝子を発現させる発現ドライバーの開発
 （国立大学法人大阪大学）
- 研究開発項目 2-2 特定の細胞型で外来遺伝子を発現するトランスジェニック系統の作製
 （国立大学法人大阪大学）

(6) 特許出願、外部発表等

		累計（件）	当該年度（件）
特許出願	国内出願	0	0
	外国出願	0	0
外部発表等	研究論文	5	0
	その他研究発表	25	11
	標準化提案・採択	0	0
	プレスリリース・報道	5	0
	展示会	0	0
	受賞・表彰	0	0

(7) 具体的な実施内容と成果

研究開発項目1：ホヤ幼生中枢神経系の単一細胞トランスクリプトーム解析

研究開発項目 1-1 神経系を可視化したホヤを用いた単一細胞トランスクリプトーム解析
(国立大学法人・大阪大学)

昨年度に引き続き神経系を可視化したホヤを用いて単一細胞トランスクリプトーム解析を行った。特に蛍光タンパク質によりグルタミン酸作動性神経を可視化したホヤを用いて単一細胞トランスクリプトーム解析を行った結果、重力感知神経回路、光受容神経回路、および接触刺激を感知する神経回路の各感覚神経回路を構成する神経細胞に関して詳細な遺伝子発現プロファイルを得ることに成功した。

研究開発項目 1-2 バイオインフォマティクス解析 (国立大学法人筑波大学)

研究開発項目 1-1 で得られたデータをもとにバイオインフォマティクス解析を行い、魚類などで逃避行動を制御することが知られているマウスナー細胞のホヤと相同な細胞(ddN ニューロン)について遺伝子発現プロファイルを明らかにした。このデータを用いて、ddN ニューロンの軸索交差に重要な遺伝子群を明らかにした。現在、本研究成果について、論文発表の準備を進めている。

研究開発項目2：単一細胞トランスクリプトーム解析を基にした研究ツールの開発

研究開発項目 2-1 特定の細胞型で外来遺伝子を発現させる発現ドライバーの開発
(国立大学法人大阪大学)

研究開発項目 1-1 で得られたデータをもとに重力感知神経回路、および光受容神経回路、接触刺激を感知する神経回路の各感覚神経回路において外来遺伝子を発現させる発現ドライバーの構築を行った。既に、重力感知を感知する神経細胞、光受容細胞、接触刺激感知細胞において外来遺伝子を発現させることに成功した。

研究開発項目 2-2 特定の細胞型で外来遺伝子を発現するトランスジェニック系統の作製
(国立大学法人大阪大学)

研究開発項目 2-1 で得られた特定の細胞型で外来遺伝子を発現するトランスジェニック系統の作製を進めている。

(8) 今後の研究開発計画

神経系を可視化したホヤを用いて単一細胞トランスクリプトーム解析を行った結果、グルタミン酸作動性神経、重力感知神経回路、光受容神経回路、接触刺激を感知する神経回路について遺伝子発現プロファイルを得ることに成功した。そして、その成果をもとに各感覚神経回路の発生に重要な遺伝子を同定してきた。2024 年度にはグルタミン酸作動性神経に加え、GABA/グリシン、アセチルコリン、ドーパミン、神経ペプチドなど他の神経細胞の遺伝子発現プロファイルの作成にも取り組んでいく予定である。さらに、現在進めているバイオインフォマティクス解析を効率良く進めるためのプラットフォームや解析パイプラインの構築を完成させる。

米国側では日本側で行った単一トランスクリプトーム解析のデータをもとに各神経細胞に特異的なマーカー遺伝子を単離し、それをもとに HCR-in situ ハイブリダイゼーション法により遺伝子の発現場所を1細胞レベルで確認している。1細胞レベルでの遺伝子発現解析、これらの神経活動解析から光応答神経回路の1細胞レベルでの解析に成功している。

フランス側では、日本側、アメリカ側から提供されたデータをもとに遺伝子発現プロファイル、およびニューロンの分布と形態に関するデータベース構築を行っている。データの統合が完了次第、既存のホヤのゲノム、遺伝子、形態の統合データベースである Aniseed において公開予定である。

(9) 外国の実施機関

カリフォルニア州立大学サンタバーバラ校

フランス国立科学研究センターモンペリエ細胞生物学研究所