

令和 3 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（カタユウレイボヤ: *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（3 年間）

(3) 受託者

国立大学法人筑波大学<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 36 百万円（令和 3 年度 6 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  
 （国立大学法人筑波大学）

研究開発項目 1-2 バイオインフォマティクス解析（国立大学法人筑波大学）

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  
 （国立大学法人筑波大学）

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  
 （国立大学法人筑波大学）

(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	3	3
	その他研究発表	2	2
	標準化提案・採択	0	0
	プレスリリース・報道	5	5
	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

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。現在、これらのデータをもとに重力感知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ている。さらにホヤ幼生や尾芽胚期の単一細胞トランスクリプトームデータをもとに、表皮感覚神経細胞の遺伝子発現プロファイルの作成 (ChaCha and Horie et al., PNAS 2022) や神経伝達物質 D-Serine の合成酵素やその受容体を発現する細胞の遺伝子発現プロファイルの同定 (Krasovec et al., Science Advances 2022)、遊泳運動神経回路を構成する神経細胞の機能解析 (AKahosi et al., Science Advances 2021) に成功した。これらの研究成果について、以下の3本の研究論文発表を行い、プレスリリースを行った。

Krasovec G, Hozumi A, Yoshida T, Obita T, Hamada M, Shiraishi A, Satake H, Horie T, Mori H, Sasakura Y.

D-Serine controls epidermal vesicle release via NMDA receptor, allowing tissue migration during the metamorphosis of the chordate *Ciona*

Science Advances 8, eabn3264. (2022)

2022年3月12日 プレスリリース

D-アミノ酸はホヤと哺乳類で皮膚分泌に関わる共通の機能をもつ

Paul-Chacha P, Horie R, Kusakabe TG, Sasakura Y, Singh M, Horie T, Levine M.

Neuronal identities derived by misexpression of the POU IV sensory determinant in a protovertebrate

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 119, e2118817119. (2022)

2022年1月18日 プレスリリース

感覚神経細胞を作る運命決定因子の動きを解明

Akahoshi K, Usumi KM, Onuma K, Ookawa K, Murakami M, Horie T, Kusakabe TG, OKa K, Hotta K.

A single motor neuron determines the rhythm of early motor behavior in *Ciona*

Science Advances 7, eabl6053. (2021)

2021年12月13日 プレスリリース

頸(うなじ)の中に潜む操縦士を発見—わずか1対の神経細胞がホヤ胚の自律的な運動を司令する—

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 (2022年度実施予定を前倒しで実施)、重力感知神経回路を構成する細胞のうち、直接重力を感知する細胞と予測されているアンテナ細胞について詳細な解析を行った。その結果、アンテナ細胞において、cGMPの合成、分解に関わる遺伝子が特異的に発現していることを明らかにした。この結果は、アンテナ細胞はcGMPを介した情報伝達系がアンテナ細胞の機能、つまり重力感知に重要な働きをしていることを示唆している。さらに、分化運命決定因子を過剰発現した個体においてバイオインフォマティクス解析を行い、細胞の分化状態を定量的に解析した。その結果、単一細胞トランスクリプトーム解析と情報生物学的な解析を組み合わせた研究手法が、リプログラミング (運命決定因子を導入して目的の細胞を作り出す) における細胞の分化状態の評価に対して有効であることを示し、論文発表とプレスリリースを行った (ChaCha and Horie et al., PNAS 2022)。

また、これの単一細胞トランスクリプトーム解析を用いて神経細胞の分化機構や神経回路研究への取り組みに対して、日経バイオテクオンラインで紹介された。

ここまでのシングルセル解析 [技術編]

<https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/report/16/082400016/030900214/>

ここまでのシングルセル解析 [実践編]

<https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/report/16/082400016/030900215/>

#### (8) 今後の研究開発計画

神経系を可視化したホヤ(受精後 21 時間)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、その中でもとくに重力感知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。このデータをもとに 2022 年度には重力感知神経回路を構成する細胞で特異的に外来遺伝子を発現させる発現ドライバーの開発に取り組んでいく予定である。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。

また、2022 年度には受精後 25 時間という発生後期の幼生において単一細胞トランスクリプトーム解析を行うことにより、孵化後の時間に伴う遺伝子発現の変遷についても調べる予定である。さらに、バイオフィ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も進めていきたい。

#### (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