

令和 4 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（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 36 百万円（令和 4 年度 12 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	2
	その他研究発表	14	12
	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

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。これらの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ている。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。

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、変態を誘導する固着刺激を感知するイオンチャネルの同定に成功し、論文発表を行った (Sakamoto et al., *Development Growth and Differentiation* 2022)。また、ホヤにおけるゲノム編集の方法をまとめた総説を発表し、今後の神経回路解析の基盤となる技術を確立し、報告を行った (Sasakura and Horie, *Methods in Molecular Biology* 2023)。

Sasakura Y, Horie T.

Improved Genome Editing in the Ascidian *Ciona* with CRISPR/Cas9 and TALEN  
*Methods in Molecular Biology*, 2637, 375-388. (2023)

Sakamoto A, Hozumi A, Shiraishi A, Satake H, Horie T, Sasakura Y.

The TRP channel PKD2 is involved in sensing the mechanical stimulus of adhesion for initiating metamorphosis in the chordate *Ciona*

*Development Growth and Differentiation*, 64, 395-408. (2022)

#### 研究開発項目 1-2 バイオインフォマティクス解析

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、尾部において接触刺激を感知し、運動神経へと出力を行う双極型神経細胞 (BTNs) について詳細な解析を行った。その結果、BTNs の分化後も発現を維持する転写因子・シグナル分子を 13 同定し、そのうち HNF6 が双極型神経細胞の特徴である双極に伸びた軸索の形成に必要な不可欠であることを明らかにした。現在、本研究成果について、論文発表の準備を進めている。

## (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、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。2023 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、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も進めている。

## (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