

2024 年度年次報告書
生命現象と機能性物質
2023 年度採択研究代表者

大町 紘平

理化学研究所 生命機能科学研究センター
基礎科学特別研究員

細胞外マトリックスが駆動する上皮組織の発生と恒常性

研究成果の概要

本研究では、生体内において細胞外マトリックス(ECM)と多細胞ダイナミクスを同時に計測する技術、ならびに ECM を時空間的に操作する技術を開発し、ECM ダイナミクスと多細胞の振る舞いとの関係を明らかにすることを目的としている。これにより、ECM が駆動する上皮組織の発生および恒常性のメカニズムの解明を目指す。

2024 年度の研究では、皮膚の基底膜を構成するラミニン $\alpha 5 \beta 1/2 \gamma 1$ (LAMA5, LAMB1/2, LAMC1) およびラミニン $\alpha 3 \beta 3 \gamma 2$ (LAMA3, LAMB3, LAMC2) の生体内可視化を目指して研究を進めた。2023 年度には、培養細胞を用いた eGFP 融合 cDNA の過剰発現系により、各ラミニン α 鎖タンパク質に eGFP を挿入するための最適な部位を同定していた。これを踏まえて、2024 年度は CRISPR/Cas9 技術を用い、マウス Lama5 および Lama3 遺伝子の候補部位への eGFP ノックインマウスの作製を試みた。得られたファウンダーマウスから、目的遺伝子が正しく挿入された個体を PCR 法によりスクリーニングし、さらにマウス皮膚組織を採取し、皮膚基底膜における eGFP 融合 LAMA5 および LAMA3 タンパク質の発現を免疫蛍光染色法により評価した。その結果、LAMA5-eGFP および LAMA3-eGFP が皮膚の基底膜に正しく発現するノックインマウスを複数系統、樹立することに成功した。

さらに、2023 年度までに構築を進めていた「生体内における ECM 操作技術の基盤整備」に関しても、複数の CRISPR activation コンストラクトを用いて Rosa26 ノックインマウスの作製を進め、こちらでも複数のノックイン個体を得ることに成功している。

2025 年度は、Lama5-eGFP および Lama3-eGFP マウスを用いて、マウス胎仔皮膚におけるライブイメージング法による基底膜ダイナミクスの計測、および新規 Cas9 マウスの機能評価とそれを用いた ECM の生体内操作を実施する予定である。