

多細胞システムにおける細胞間相互作用とそのダイナミクス
2020年度採択研究代表者

2022年度
年次報告書

米原 圭祐

情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所
教授

コンタクトーム解析の基盤技術の確立

研究成果の概要

本研究ではマウス中枢神経系における神経細胞の機能ドメインを介した多細胞相互作用解析のための技術基盤”コンタクトミクス”を確立することを狙いとする。概念実証のために培養細胞を用いた実験を行った。TVA-LPXTG と mgSrtA-Neurexin を別々のコンストラクトから発現させると標的 EGFP 陽性 HEK 細胞へ EnvA 狂犬病ウイルス感染効率が 6 倍程度上昇したことから、mgSrtA による LPXTG への立体構造的なアクセスのしやすさが反応効率に重要であることが示唆された。また、TVA に付加した V5 ペプチドタグの GFP 陽性標的細胞におけるシグナルが Tyramide SuperBoost を用いた増幅により検出することが出来た。そのような TVA-V5 の転移は LPETG に変異を入れた場合は検出できなかったことから、mgSrtA による特異的反応により TVA の標的細胞への転移で起きたことが示唆された。また、TVA の転移付加に加えて、先行研究で用いられているビオチン-LPETG を用いた近接細胞標識実験も行った。LPETG 依存性の機構により標的 EGFP 陽性へのビオチン標識が増加することを示した。ビオチンと LPETG の間に amino hexanoic acid や 2-hydroxyacetic acid などの化学リンカーを入れると EGFP 陽性へのビオチン標識が更に増加したことから、mgSrtA による切断と転移反応は LPETG 周辺の構造に非常に敏感であることが分かった。起始細胞から GFP 陽性への転移付加反応が細胞混濁液の状態では起こるが、プレートに蒔いた後の反応がまだ検出されておらず、そのためビオチンや TVA が隣接細胞を標識する様子がまだ捉えられていない。次年度以降、この問題の解決を目指す。LPETG 配列なしのコンストラクトを発現するコントロール AAV ベクターを用いた体内標識実験を現在行っている。