

【目的】神経幹細胞から生み出された多様な神経が、正しい場所に移動し、最適な相手と結合することで正確な神経回路が構築される。神経の産生に不具合が生じると顕著な脳機能障害が起こるため、神経産生の制御は神経回路形成に非常に重要である。神経幹細胞では、Temporal Factors (TFs) という転写因子群が特定の順序で発現することで、多様な神経を作り分けている。しかし、TFs の下流でどのような遺伝子が制御され細胞運命を決定しているのかについては、これまで適切な解析法がなかったため不明な点が極めて多く残されている。DNA アデニンメチル基転移酵素を利用して転写因子の DNA 結合パターンを解析できる新規手法 DamID を用いて TFs の標的遺伝子を同定し、神経の運命決定を直接制御する遺伝子を特定する。

【方法】本研究では、解析モデルとして、哺乳類の脳皮質と多くの共通点を持つショウジョウバエの視覚中枢を用いた。ショウジョウバエの視覚中枢は、層・カラム構造といった哺乳類の脳と共通した構造を持ち、解析可能な程度の複雑性を持つ。また、単一細胞レベルでの遺伝学的解析が可能であるため、脳神経発生の解析モデルとして優れている。まず、DamID 解析を行うために必要な TF-Dam 融合タンパク質の発現コンストラクトを作製した。次に、視覚中枢に存在する二つの幹細胞プールをそれぞれ特異的に操作できる系統の探索を行った。また、新規の TFs の探索と役割がわかっていない TF についての機能解析を行った。

【結果】公共のストックセンターから取り寄せた合計 137 種類の系統を用いて、幼虫期の脳におけるそれぞれの発現パターンを調べたところ、GMR35H02、GMR35A08 がそれぞれ、表層の幹細胞集団 (OPC)、後方の幹細胞であるグリア前駆細胞 (GPC) において特異的に発現していることがわかった。GMR35A08 については、GPC の 70% 程度の範囲での発現が確認された。これによって、それぞれ OPC、GPC において特異的に DamID 解析を行うことが可能になった。また、発現スクリーニングによって、古い幹細胞で特異的に発現が見られる遺伝子、ONB1、ONB2 を同定した。また、同時に行っていた NP 系統のスクリーニングによって、ONB2 の発現を再現する系統として NP4099 を同定した。この NP4099 系統を用いて、これまで役割がわかっていなかった TF である D の過剰発現を行ったところ、グリア細胞の過剰産生が見られた。

新規 TF の発現を再現する系統と、OPC、GPC を特異的に操作可能な系統の発現パターン

