

令和 4年 ほくぎん若手研究者助成金 研究実績報告書

氏名	所属・職名		助成金額
伊原 大輔	富山大学 学術研究部 薬学・和漢系 分子神経生物学研究室		800,000 円
研究課題名	MRTF 高品質抗体を用いた ChIP シークエンス法による SRF-MRTF 介在性遺伝子発現制御系の網羅的な解析		
研究の概要	<p>神経細胞における転写因子を介した遺伝子発現は、記憶や学習の基礎過程として重要である。申請者らは最近、シナプス活性化にともない、転写因子 SRF (serum response factor)のコファクターの 1 つ MRTFB (myocardin-related transcription factor B)が一過的に核内に移行することや、最初期遺伝子の 1 つ <i>JunB</i> のエンハンサー部位への MRTFB の集積が増加することを発見した。つまり、神経可塑性を担う新規のシグナル経路の 1 つとして、“SRF-MRTF 経路”が同定されつつある。しかし、神経系における MRTF を介した遺伝子発現様式については未解明な点が多い。そこで本研究において、網羅的な遺伝子解析を行うことにより、「転写因子 SRF のコファクターMRTF は、どのような遺伝子群の発現に関わるのか」を明らかにする。</p>		
研究の成果	<p>ChIP アッセイ用試薬が購入可能となったため、<i>JunB</i> 遺伝子上への MRTFB の集積増加が認められたときと同一の実験条件で、ChIP アッセイの約 69 倍のスケールアップを行った。クオリティチェックを通過したため、外部業者への委託により ChIP シークエンス解析を行った。その結果、Bic/4AP により MRTFB のリクルートについて変動のある遺伝子数は 11216、2 倍以上に増加した遺伝子数は 3875、1/2 以下に減少した遺伝子数は 9450 であった。また、その中には神経系において重要な生理的意義をもつことが報告されている遺伝子も多数含まれた。今後は、<i>Sema3c</i>、<i>Neurog1</i>、<i>Foxp4</i>、<i>Shank2</i>などの遺伝子や、特に増加倍率が高かった遺伝子について、定量的 PCR により検証することにより、Ca²⁺シグナリング依存的な遺伝子のみならず、アクチン重合経路依存的な遺伝子の同定を試みる。</p>		
研究成果 発表状況	<p>○伊原 大輔, 田邊 広樹, 今西 詩織, 和泉 勇輝, 小坂 彩, 佐野 友香里, 阪上 洋行, 田淵 明子. シナプスに存在する転写コアクチベーターMRTFB の神経活動依存的な核移行と遺伝子発現制御系に関する解析. 日本生化学会北陸支部 第 40 回大会(富山) 2022 年 6 月</p> <p>○伊原 大輔, 田邊 広樹, 今西 詩織, 小坂 彩, 佐野 友香里, 阪上 洋行, 田淵 明子. ポストシナプスに局在する MRTFB は神経活動依存的に核移行し SRF 標的遺伝子の発現を制御する. NEURO2022 (沖縄) 2022 年 7 月</p> <p>○伊原 大輔, 田邊 広樹, 今西 詩織, 是沢 由樹, 小坂 彩, 佐野 友香里, 阪上 洋行, 田淵 明子. 転写活性化因子 MRTFB は細胞内 Ca²⁺シグナリング依存的に核移行し SRF 標的遺伝子の発現を制御する. 日本薬学会北陸支部第 134 回例会(富山) 2022 年 11 月</p>		
経費の執行 状況	区分	執行額(円)	備考
	・令和 3 年度まで	210,249 円	
	・物品費	385,151 円	・クロマチン免疫沈降関連試薬類、実験動物、消耗品 など
	・その他	204,600 円	・ChIP-Seq 解析外部委託費