

文部科学省科学研究費補助金 令和3年度～令和7年度学術変革領域研究 (A)

神経回路センサスに基づく適応機能の構築と遷移バイオメカニズム

適応回路センサス NEWSLETTER



Vol. **04**



Contents



文部科学省科学研究費補助金
令和3年度～令和7年度学術変革領域研究 (A)
神経回路センサスに基づく適応機能の
構築と遷移バイオメカニズム

適応回路センサスニュースレター

vol.04

領域代表挨拶 01

参加記

第1回適応回路センサス (ACC) ハンズオン講習会開催報告 03

適応回路センサス 令和5年度公開シンポジウム・参加記 06

第6回適応回路センサス領域会議・体験記 08

新公募班紹介

睡眠の性差を作り出す神経機構の解明 09

自閉症における社会性回路遷移機構の解明 10

人工シナプスコネクタによる神経再編成と障害回復モデルからの新規適応回路センサス 11

FISHを用いた異なる機能のニューロンの新規分取法の開発による包括的エピゲノム解析 12

適応回路を規定する1細胞空間エピゲノムセンサス技術の確立 13

高効率超シナプス性 AAVベクター変異体の開発 14

時空間的プロテオーム技術による適応神経回路の分子機序の網羅的解析 15

神経回路イメージングに基づくクロマチンセンサス 16



Greeting

本研究領域の研究成果は、
適応回路の基礎的研究の進展に留まらず、
精神神経疾患の原因回路を狙った副作用の少ない治療法の開発や、
脳に学んだ省電力性と耐ノイズ性の高い人工知能や
ロボティクスの開発などに幅広く役立つことが期待されます。

「適応回路センサス」最終年度に向けて

2021年度秋に発足した科学研究費助成事業学術変革領域研究 (A) の「神経回路センサスに基づく適応機能の構築と遷移バイオメカニズム」(適応回路センサス) 領域も4年度目となり、皆様にニュースレターNo.4を無事お届けする運びとなりました。

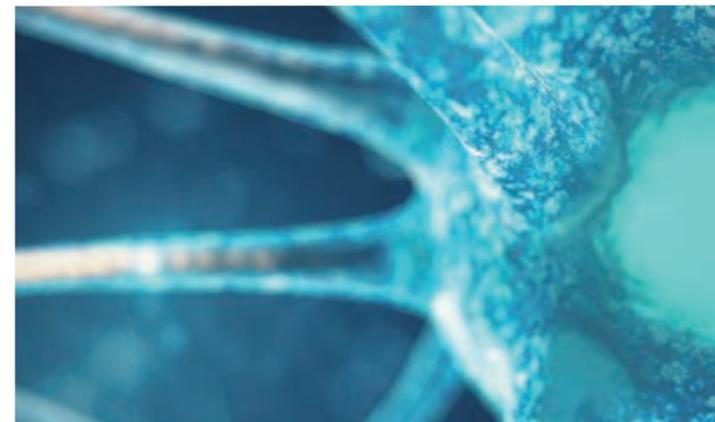
本領域の狙いは、適応脳機能を担う回路構築と回路遷移の仕組みの解明に狙いを定め、先鋭的な神経回路活動の計測・操作技術と網羅的な遺伝子発現の解析技術を組み合わせ、個別の構成細胞がどのような固有の特性や挙動を示して適応脳機能に至るのかを包括的に追跡するものです(適応回路センサス)。この適応回路センサスに基づき、適応回路の構築・遷移ダイナミクスを示す責任回路を絞り込み、理論的に動作原理を考証することにより、脳の本質である適応現象を新次元の視点で探る学問領域を創成することを目指しています。

当初は計画班8班(19研究室)と総括班の体制でスタートし、2年目からは公募班21班を加えて、全国40研究室の精鋭が多彩な生物種と手法を駆使して適応回路センサスに取り組んでおります。そして4年目では計画班の運営体制を再編するとともに、公募班のうち8班が入れ替わり、特に神経系に適するオミックス技術開発が大幅に強化されました。本領域の特色として神経科学と網羅的解析を結びつけるための強力な支援体制が挙げられます。ほぼ隔週でZoom開催される「ACC勉強会」では各班が最新論文を持ち回りで紹介しており、学際的な情報や技術的な不明点はSlackでも活発に共有し議論しています。若い研究員や大学院生は研究室滞在支援制度を利用して研究班の間の共同研究や技術習得を進めています。

ニュース前号のお届けの後、2024年3月には大阪大学で一般

公開シンポジウムを開催し、6月にオンライン領域会議、10月に兵庫県淡路島で2泊3日の領域会議を開催し、翌年1月には東京科学大学にてハンズオン講習会、理化学研究所にて国際シンポジウムも開催いたしました。

おかげさまで本領域の計画班からも公募班からも素晴らしい研究成果が続々と出てきており、本領域の研究支援活動に対して中間評価でも高い評価をいただきました。いよいよ最終年度に向けて計画班と公募班が一致団結して適応回路センサスの総仕上げに取り組んでまいりますので、皆様の一層のご理解とご協力をお願い申し上げます。



領域代表者
東京科学大学
大学院医歯学総合研究科 教授

磯村 宜和

磯村 宜和

第1回適応回路センサス (ACC) ハンズオン講習会開催報告

執筆：早川 慶紀、尾崎 遼

2024年1月16日(火)～17日(水)に筑波大学にて、遺伝子解析促進委員会の活動の一環として、班員の1細胞RNA-seqデータ解析技術の向上を目的として、「適応回路センサス (ACC) ハンズオン講習会」を開催しました(参加者22名)。本講習会では、ハンズオン形式での講習を提供することで、班員に実践的な1細胞RNA-seqデータ解析を学んでいただくことを目指しました。

本講習会では、RとSeurat(スーラ; New York Genome CenterのRahul Satija博士のグループに開発された1細胞RNA-seqデータ解析用のRパッケージ)を用いた1細胞RNA-seqデータ解析を、1つ1つの手順を理解しながら学べるようにすることを目指しました。そのために、参加者が実際に手を動かす時間をなるべく確保するために、インストールの苦勞を回避して同一の計算機環境にすぐにハンズオンを開始できるような環境を整えました。具体的には、あらかじめ1細胞RNA-seq解析に必要なRパッケージをインストールしたDockerコンテナを用意した上で、研究室のサーバー上にRStudio Serverを立ち上げ、そこに受講生がログインしてハンズオンを行うということを行いました。このシステムは参加者にも好評で、できれば各研究室でも利用できるように今後整備したいと考えています。



図1 講習会の様子

さらに本講習会では、1細胞RNA-seqデータ解析のチュートリアルでよく用いられる末梢血単核細胞(PBMC)のデータではなく、神経科学に関連した1細胞RNA-seqデータを用いました。これは、「神経科学のデータの方が参加者がより興味を持てるのではないか」という郷廣先生(兵庫県立大学)の発案によるものです。そのために、公募班の竹内秀明先生(東北大学)のグループのご厚意により、メダカ雌雄由来の視蓋および終脳由来の10x Chromiumによる1細胞RNA-seqデータを提供いただきました。

1日目は、まず「R入門からSeurat超直行便」と題し、Rの基礎からSeuratのオブジェクト構造を学び、Seuratを用いるための準備をおこないました。続いて、Seuratへの1細胞RNA-seqデータの読み込み、低品質細胞を除去する閾値を自動決定するddqcを用いたデータQC、データの正規化や統合について学びました。特に、Seurat v5で登場したLayersという構造に触れつつ、複数のデータを同時に扱う方法について学びました。その上で、高変動遺伝子の抽出、次元圧縮、クラスタリングといったSeuratでの基本的な解析の流れを学びました。

2日目は、前日に引き続き、RとSeuratを用い、1細胞RNA-seqデータの高次解析について実践的に学びました。

特に、ScTypeとAzimuthを用いた細胞型アノテーション、Seuratを用いた様々な種類のプロットによる遺伝子発現量可視化方法、2条件間での発現変動遺伝子解析について学びました。

講習会では、受講者からは様々な質問や意見が出て大いに盛り上がりました。基礎的な質問から、実際の論文を書くときや他の実験データとの整合性に関するハイレベルな質問まで出て、講習会スタッフとしても大いに刺激を受けました。本講

習会が、班員の研究の助けになることを願ってやみません。

最後になりますが、データ提供いただきました竹内先生・梶山先生(東北大学)・安齋先生(京都大学)、貴重な機会をいただきました郷先生、スタッフとして手伝っていただいた仮屋山博文さん・井尻遥士さん、サーバー・ネットワーク周りをサポートいただいた松澤亮輔さんにこの場を借りて感謝いたします。



図2 記念撮影



筑波大学医学医療系
早川 慶紀 研究員



研究分担者
筑波大学医学医療系
尾崎 遼 准教授

■第1回ハンズオン講習会参加記

執筆：富山 新

筑波大学の春日キャンパスで開催されたscRNA-seq解析ハンズオン講習会に参加させていただきました。普段は、私自身はライブイメージを用いた研究を行っており、scRNA-seq解析を行う機会は今のところありませんでした。しかし、所属研究室でもscRNA-seq解析を用いた研究を行っていることもあり、自身の研究分野に関わらず、scRNA-seq解析の知識は持っておくべきだと感じておりました。

講習会では、早川先生をはじめとする先生方の丁寧な御指導のもと、scRNA-seq解析の基礎から応用まで実践的に学ぶことができました。講習では、RとそのscRNA-seq解析パッケージであるSeuratの基礎からDEG解析まで、解析のステップをそれぞれ詳細に説明していただき、普段Rを用いていない初学者の私でも、順を追って理解することができました。配布された資料は非常に充実しており、後に復習する際や自ら解析する際にも活用させていただきたいと思いました。

また、講習会の後に開催された意見交換会では、普段はお

話することがない分野の先生方や学生の方々と交流する機会を得ることができました。様々な立場で研究が行われている皆様の視点や経験談は、私にとってとても新鮮で、大きな刺激となりました。

この講習会で実際に解析のステップを体験したことで、scRNA-seq解析に対する理解をこれまでより深めることができたと感じます。今後は、この経験を生かして一層の研究活動に励んで参ります。また、研究室滞在支援制度により旅費を支援していただきました。この機会を与えてくださった全ての方々に心から感謝申し上げます。



大阪大学大学院
生命機能研究科

富山 新

■第1回ハンズオン講習会参加記

執筆：山口 杏菜

筑波大学の高細精医療イノベーション棟にて、scRNA-seq解析の適応回路センサス (ACC) ハンズオン講習会が、1月16日と17日に行われました。冷たく澄んだ風が吹き下ろすなか、全国から計20名程がつくばに集まりました。講習会はあらかじめ用意していただいたRスクリプトの説明を受けながら、各々が実際にコマンドを実行する形で進みました。

講習会ではRのデータ解析の基礎から丁寧に説明してください、初学者の私でも概略的な解析全体の流れを掴むことができました。今回扱ったRのSeuratパッケージのように、現在scRNA-seq解析のための様々なツールが開発されており、コマンドを実行すれば簡単に解析を進めることができます。それがゆえに、各コマンドで実際データがどのように処理され、どのような構造になっているかはあまり理解していませんでした。そのため、始めにシンプルな例を通じてSeuratが行う処理の基本的なイメージを掴めたことは大きな収穫であり、その後に続くメダカ終脳・視蓋の実データの解析の理解を助けてくれました。

また、今回の講習会は「どの解析法が最適か」を学ぶ、良い

機会となりました。日々、論文で新しい解析法が提案されるなか、自力で最適な解析法を見つけることは困難に感じていたため、複数の解析法を試して比較できたのは大変勉強になりました。さらに、参加者同士のディスカッションから、手元にあるデータによってベストプラクティスは異なること、複数の手法を試した中から最適なものを選ぶこと、極力恣意的になり得る部分は削ること、といった解析する際の正しい姿勢を学ぶことができました。

今回の講習会で学んだことを生かし、今後はメダカのおキシトシンターゲットニューロンを同定するために、最適なscRNA-seq解析を模索していきたいと思います。



東北大学大学院
生命科学研究所

山口 杏菜

適応回路センサス令和5年度公開シンポジウム・参加記

執筆：小林 健司

2024年3月10日、大阪大学吹田キャンパス・生命システム棟にて「適応回路センサス・令和5年度公開シンポジウム」が開催されました。本シンポジウムは一般公開のシンポジウムであり、本領域の4名の他に特別ゲスト1名の合計5名の先生方による講演を一般公開で実施しました。当日は近隣の高校の生徒も含めて総勢50名ほどの参加がありました。

シンポジウムは、領域代表の磯村先生によるあいさつに続いて、計画研究班代表(当時)の堀江健生先生(元大阪大学)により、ホヤ幼生の全神経細胞の細胞分化のメカニズムの解明を目指した研究の内容が紹介されました。ホヤは脊椎動物に最も近縁な無脊椎動物ですが、オタマジャクシ型幼生の中樞神経系はわずか177個の神経細胞から構成されます。講演ではドーパミン神経の分化決定のメカニズムについて紹介されました。次に、公募研究班代表の竹内秀明先生(東北大学)により、メダカの雌雄の配偶戦略の違い(繁殖コストの性差)に関する研究の内容が紹介されました。メスの配偶者選択や

オスの配偶者防衛行動などの配偶者選択行動自体も興味深い現象ですが、それらがどのような分子機構によって制御されているかが解明されてきており、今後の研究の展開がとても楽しみだと感じました。3人目に公募研究班代表の安部健太郎先生(東北大学)により、鳴禽類ジュウシマツを用いたさえざり学習をモデルとした個体間のコミュニケーションの様式の解明を目指した研究の内容が紹介されました。さえざり翻訳プログラム(SAIBS)、パーチャルリアリティー実験システムなど独自の手法を開発して研究を進められており、とても興味深い内容でした。4人目は計画研究班代表の佐々木拓哉先生(東北大学)により、マウスやラットをモデル動物として、脳疾患の病態解明や新薬開発などを目指した、脳機能の研究の内容が紹介されました。特に、薬学的な観点からの脳の機能と疾患に関する歴史的な解説や近年注目されているグリア細胞の重要性に関する紹介もあり、高校生などにとっても興味深く、また、大学選択の進路を考える上でも参考になるお話だった



発表風景

第6回適応回路センサス領域会議・体験記

執筆：荒木 峻、西本 翔裕、広田 卓

のではないかと思います。

最後に、領域外からの特別ゲストとして、大阪大学大学院生命機能研究科/脳情報通信融合研究センターの西本伸志先生により「脳は世界をどう理解するか?—ヒト脳神経科学への誘い—」という演題でヒトの複雑で多様な知覚・認知機能がどのような神経基盤によって成立しているのかについての最新の研究内容が紹介されました。具体的には、様々な知覚・認知体験下におけるヒトの脳神経活動（機能的磁気共鳴画像法（fMRI）記録）を説明する予測モデルを構築することで、脳内情報処理及び情報表現に関する包括的な知見を得ようとする研究です。例えば、特定の画像を実際に目で見てヒトの脳の活動（fMRI記録）を計測し、その脳信号から見ている画像を復元することができます。また、精度は低いながらも脳内で想起されたメンタルイメージの画像の映像解読することも可能になってきているそうです。深層学習や自然言語処理等を含む機械学習技術の進展によって、脳神経活動についてこれまでより高精度な予測モデルが構築可能になってきています。これらの技術を応用することで、脳情報処理や脳情報表現について新たな定量的知見や解釈が得られるようになってきており、今後の研究の進展が期待されます。

今回の公開シンポジウムではホヤ、サカナ、トリ、マウス・ラット、ヒトと神経回路の研究に用いられている脊索動物門に属する主要なモデル動物の話それぞれの専門家である5名の先生方から基礎的な内容から最新の研究成果まで聞くことができる貴重な機会となりました。公開シンポジウムの後には、希望者の高校生を対象に大阪大学の研究室の見学が行われました。参加した高校生、大学生、大学院生にとっても有意義な機会になったことと思われます。

末筆になりますが、このような素晴らしい公開シンポジウムの開催にご尽力いただいた領域関係者の皆様に深く感謝申し上げます。

適応回路センサスに基づく
適応機能の構築と遷移バイオメカニズム
令和5年度 公開シンポジウム

最先端技術で迫る脳の働きと多様性

講演者
堀江 健生 大阪大学大学院生命機能研究科 教授
竹内 秀明 東北大学大学院生命科学研究所 教授
安部 健太郎 東北大学大学院生命科学研究所 教授
佐々木 拓哉 東北大学大学院薬学研究科 教授
西本 伸志 大阪大学大学院生命機能研究科 教授

会場：大阪大学吹田キャンパス
生命システム棟2階 講義室
吹田市山田丘1-3

日時：2024年3月10日（日）13時～16時
（受付 12:30より）

アクセス
・大阪モノレール彩都線
「阪大病院前駅」下車 徒歩5分
・阪急バス千里中央駅発
「阪大本部前行」または
「茨木美穂ヶ丘行」
近鉄バス阪急茨木市駅発
「阪大本部前行」（JR茨木駅経由）
いずれも阪大病院前下車 徒歩1分
お問い合わせ先
〒565-0871 吹田市山田丘1-3
大阪大学大学院生命機能研究科
堀江 健生
horie.takeo.fbs@osaka-u.ac.jp

【主催】学術実務領域研究（A）
適応回路センサスに基づく適応機能の構築とバイオメカニズム

ポスター



大阪大学 大学院生命機能研究科
磯村 班（研究協力者）

小林 健司 特任助教

2024年10月17日から19日に、淡路夢舞台国際会議場で、適応回路センサスの第6回領域会議が開催されました。計画班、公募班合わせて、20件程度の口頭発表がありました。その後、ポスター発表での緊密な議論や、ナイトセッション（自由討論）、ランチセミナーなどがあり、濃密な3日間でした。今回、領域会議に参加する機会を得て、非常に有益で充実した体験をすることができました。この会議は、私達にとって新しい視点を得るだけでなく、研究活動に対する具体的な方向性を考える大きな助けとなりました。

研究発表の中で、荒木が特に印象深かったのは、量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究所の湯妻正和先生による新しい計測技術に関する発表でした。この技術は、ニューロンの神経活動を、従来よりも高い解像度と深さで観察できるものでした。私達の研究室では、広視野二光子顕微鏡を用いて広範囲の皮質活動を計測する予定ですが、深層領域のニューロン活動の計測は未着手の課題でした。この新しい技術を導入することで、従来の計測範囲をさらに深い脳領域に拡張できる可能性を感じ、私の研究の幅を広げるための重要な示唆を得られました。

広田は、新潟大学脳研究所・細胞病態学分野の三國貴康先生のご発表に、特に興味を惹かれました。三國先生の新規技術と、私の所属する研究室の技術の相性が良く、領域会議期間中に多くの議論をさせて頂きました。本領域会議に参加した意義を改めて実感しています。

会議では、基礎研究から応用研究まで多岐にわたるトピックが扱われており、西本は、どの発表も非常に刺激的だと感じました。自分の研究分野に直接関わるテーマだけでなく、異なる分野の研究内容にも触れることで、今後の研究に対する新しいアイデアが得られたと感じています。例えば、シングルセルレベルでの遺伝子発現解析の研究、細胞の個性を明らかにしようとする研究、分子生物学的な実験技術の話から、計算理論を駆使したセンシングまで幅広い発表がありました。福島県立医科大学の小林和人先生のご研究では、遺伝子発現と行動学習を関連付ける研究が進んでおり、大変な感銘を受けました。また、京都大学の濱口航介先生のご研究では、局所回路センサスを、まさしく精査する技術開発が進んでおり、今後の発展が楽しみになりました。濱口先生と、私達の研究室では、マウスの行動実験や理論での行動モデル化という共通点が多くあります。その中で、濱口先生は、分子生物学的な手法を新規に開拓しており、多くの議論をすることが出来ました。

発表時間だけでなく、交流の時間も多く提供されており、実験結果の解釈に関する議論と技術面での議論、技術提供から領域全体でセンサス研究を促進しようという共同研究の可能性が多くありました。また、学習・記憶・精神疾患に伴う神経回路の遷移を、細胞種や遺伝子発現といったミクロな要素まで解析する技術について、多くを学ぶことができました。人数規模が小さい分、偉大な先生との距離も近く、質疑の時間に聞けなかったことも小休憩の時間に気軽に聞くことができました。

学会期間中には、自身（荒木）の研究内容をポスター発表する機会もありました。発表を通じて、様々な分野の専門家の先生方と意見交換を行い、これからの研究の進め方について多くの助言をいただいたことは、何にも代えがたい経験でした。現在、荒木は、新しい分野に進出したばかりで、研究の方向性や具体的な実験手法について模索している段階です。そのため、今回いただいたフィードバックは非常に実践的で、これからの研究設計に直接的に活かせる内容ばかりでした。西本・広田も、学生としてポスター発表を行いました。先生方にポスター発表を聞いて頂くのは、とても緊張しましたが、大変貴重な経験となりました。また、参加人数は少ないながらも、他大学の学生との議論をさせて頂き、多くの議論が出来ました。

末筆になりますが、本会議の開催にあたりご尽力いただいた領域関係者の皆様に、素晴らしい研究と議論の機会を頂きましたことを御礼申し上げます。会議場やグランドニッコー淡路の雰囲気や、朝食ビュッフェも素晴らしく、また夢舞台に来たいと感じました。全体を通して、適応回路センサスへの参加は、私達にとって極めて価値のある体験となりました。新しい知識や技術の習得だけでなく、研究者としての視野を広げる良い機会となり、今後の研究活動へのモチベーションがさらに高まりました。このような貴重な経験を活かし、今後の研究に進進していきたいと思っています。



左から、荒木峻、広田卓、西本翔裕
（東京大学定量生命科学研究所 神経計算研究分野）

睡眠の性差を作り出す神経機構の解明

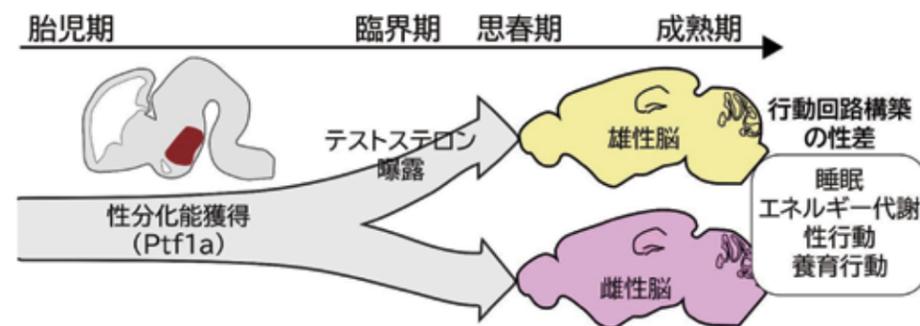
Kim et al. (2022) Kinase signalling in excitatory neurons regulates sleep quantity and depth Nature 612, 512-518.
 Choi et al. (2021) The role of reproductive hormones in sex differences in sleep homeostasis and arousal response in mice. Frontiers in Neuroscience, 15, 739236.
 Funato et al. (2016) Forward-genetics analysis of sleep in randomly mutagenized mice. Nature 539, 378-383.



筑波大学
国際統合睡眠医科学研究機構
船戸 弘正 客員教授

睡眠は恒常性を持った制御を受ける。つまり睡眠が不足すると眠気として体験する睡眠へのドライブが強まり不足した睡眠を補おうとする。同様にエネルギー代謝にも恒常性があり、エネルギーが不足すると摂食行動が促進されたりエネルギー産生やエネルギー源の調整が生じる。マウスにおいては睡眠及びエネルギー代謝に明瞭な性差があり、雌は雄よりも覚醒時間が長く、肥満しにくい。睡眠覚醒、エネルギー代謝とも視床下部による制御を受ける。視床下部は、性的二型核と呼ばれる構造的に性差を示す領域やニューロン集団を含んでいる。この脳の性差の形成は段階的に行われるが転写因子 Ptf1a が発生期の視床下部領域に発現することが最初期イベントである。しかし、

成熟した脳、特に視床下部が睡眠やエネルギー代謝の性差を生み出す機構は明らかではない。本研究では、睡眠及びエネルギー代謝に共通する細胞内シグナル系に着目して、責任ニューロン集団を同定する。同定された視床下部ニューロン集団を用いて単一（核）細胞トランスクリプトーム解析を中心とした神経細胞プロファイリングを行い、責任ニューロン集団の特徴抽出や操作のためのマーカーを同定する。性ホルモン、特にエストロゲンがこれらのニューロン群や睡眠覚醒に与える、時間的および空間的な分子メカニズムを解明することを目指す。本研究により、睡眠とエネルギー代謝の制御とその性差の基盤となる神経回路の作動原理を明らかにする。



様々な行動とそれを担う神経回路には明確な性差がある。胎児期に脳の性分化能力を獲得し、臨界面(出生前後)のテストステロン曝露により脳の構造的性差が形成され思春期以降の性ホルモン上昇により機能的性差が生じる。

自閉症における社会性回路遷移機構の解明

Kaizuka et al. (2024) Remodeling of the postsynaptic proteome in male mice and marmosets during synapse development. Nat Commun 15:2496.
 Sato et al. (2023) Social circuits and their dysfunction in autism spectrum disorder. Mol Psychiatry 28: 3194-3206.
 Nakai et al. (2023) Virtual reality-based real-time imaging reveals abnormal cortical dynamics during behavioral transitions in a mouse model of autism. Cell Rep 42: 112258.
 Miura et al (2020) Encoding of social exploration by neural ensembles in the insular cortex. PLoS Biol 18: e30000584.



神戸大学
大学院医学研究科
内匠 透 教授

社会性行動は多次元かつ複雑な行動からなり、代表的なヒトの行動である。マウスにおいては、社会行動の神経回路(社会性回路)研究は光遺伝学等のシステム神経科学的技術の進歩とともに急速にその理解が進んでいる。しかしながら、社会行動中の神経回路ネットワーク動態を記録、解析する方法は確立されていなかった。我々は、微小顕微鏡を用いて社会行動中マウスの大脳島皮質で「ソーシャルセル」を同定した。また、バーチャルリアリティ (VR) を利用して社会行動を生み出す

脳ネットワーク動態をリアルタイムで可視化する系を立ち上げた。本研究では、社会性回路のシステム脳科学的解析に、VRを用いた大脳皮質ネットワーク動態解析と島皮質の単一細胞トランスクリプトーム解析を組み合わせ、ソーシャルセルがどのような特性を示して社会性回路に至るかをセンサ的に追跡する。本成果は、社会行動及びその異常としての自閉スペクトラム症(自閉症)の責任回路の特定に繋がること期待される。

Projector, Microscope, Screen, Air

VRを利用した大脳皮質ネットワーク動態の解析

微小顕微鏡によるソーシャルセルの解析

社会性の神経回路

Promotive Pain or fear

Suppressive

人工シナプスコネクタによる神経再編成と障害回復モデルからの新規適応回路センサス

Suzuki K. et.al. (2020) A synthetic synaptic organizer protein restores glutamatergic neuronal circuits. *Science*. 369(6507):eabb4853.
 Saijo Y et.al. (2024) Human-induced pluripotent stem cell-derived neural stem/progenitor cell ex vivo gene therapy with synaptic organizer CPTX for spinal cord injury. *Stem Cell Reports*. 19(3):383-398.
 Takeuchi K. et.al. (2014) Chondroitin sulphate N-acetylgalactosaminyl-transferase-1 inhibits recovery from neural injury. *Nat Commun*. 2013;4:2740.

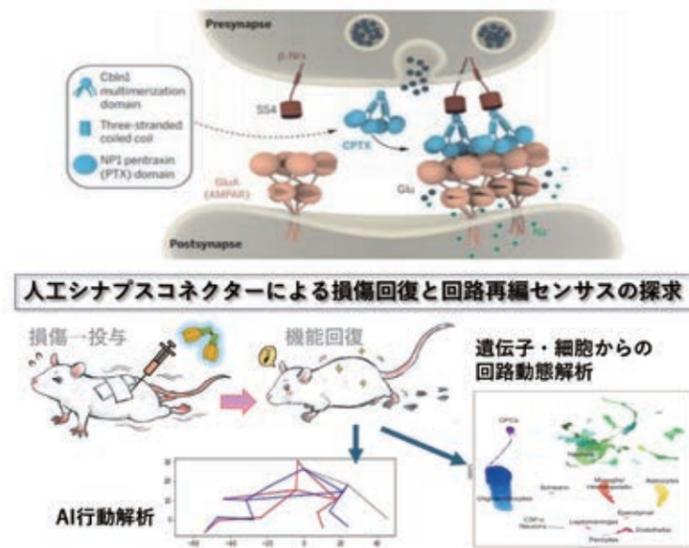


愛知医科大学
医学部
武内 恒成 教授

脊髄損傷や外傷性脳損傷には根本治療がない。そのため基礎研究から応用に向けてはiPS細胞移植等も数多く試行されています。そこには、どのように回路やどのニューロン間のシナプスが繋がればよいのか、などの重要な課題も残されています。私たちは、脊髄損傷時に神経軸索の再生を阻害する因子(線維性瘢痕阻害)形成に人為的に介入する技術(Nature communication 2014)や、さらには神経回路の構築再編への全く新しい直接介入法として、神経(興奮性)シナプスを狙った場所とタイミングで人為的に結合する“人工シナプスコネクタ-CPTX”の合成に成功し応用を展開しています(Science 2020)。この技術を駆使して神経疾患および脊髄損傷マウスの劇的な行動機能回復を示し、現在は臨床応用も視野に入れた解析を進めています。比較的シンプルな脊髄回路において、損傷後の生理機能回復のための適応回路の構築・遷移と、どの回路がどの順序で形成されることが生理機能回復に重要かを明らかにしてゆきます。さらには、新規開発を進めている“次世代シナプスコネクタ”での脊髄回路における人為的な適応神経回路構築の可能性とその技術開発も目的としています。具体的には、1) 合成人工シナプスコネクタが脊損の初期あるいは慢性期でどの回路を繋ぐことが重要か、回路遷移とその重要性を網羅的snRNA-Seq解析とウイルスベクターなどを駆使した回路センサ

スの探索から明らかにしてゆきます。2) 他のさまざまなシナプス構造を接続可能な次世代シナプスコネクタの構築を国際共同研究にて進めています。これを脊損モデルに投与し、回復に適応する新たな回路の遷移形成を試みます。3) AI機械学習によって、脊損後の生理機能回復過程の厳密な定量化に成功しています。神経回路の遷移がどのような表現型に現れるか、最も効果的な回路はどれか、個別にセンサスした回路と表現型との相関を明らかにしてゆきます。

脳よりはシンプルとはいえ未解決な課題も多い脊髄の神経回路とその回路編成の解明に、さらには今後の治療応用への糸口としても、これらは貢献が期待できると考えます。



FISHを用いた異なる機能のニューロンの新規分取法の開発による包括的エピゲノム解析

Frey T et al. (2023) Age-associated reduction of nuclear shape dynamics in excitatory neurons of the visual cortex. *Aging Cell*. 2023 Sep;22(9):e13925.
 Kishi Y and Gotoh Y. (2021) Isolation of genetically manipulated neural progenitors and immature neurons from embryonic mouse neocortex by FACS. *STAR Protocol*. 2021 May 17;2(2):100540.
 Eto H et al. (2020) The Polycomb group protein Ring1 regulates dorsoventral patterning of the mouse telencephalon. *Nat Commun*. 2020 Nov 11;11(1):5709.



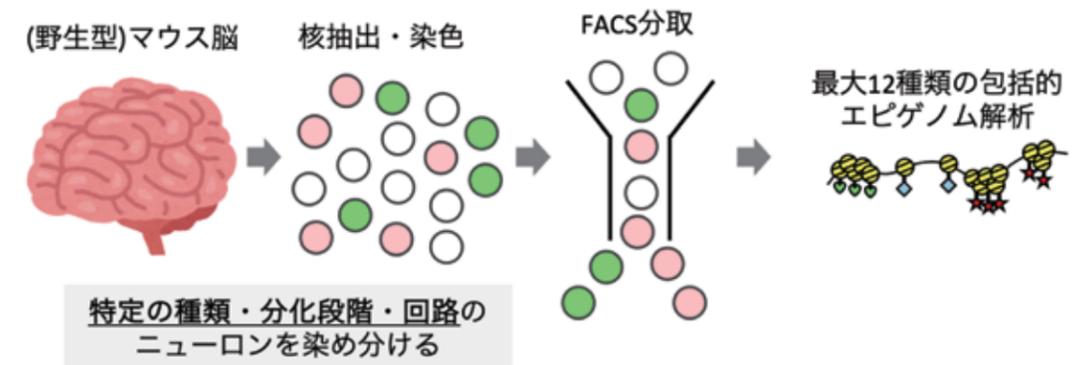
東京大学
定量生命科学研究所
岸 雄介 准教授

脳内には無数の細胞が存在する。例えば大脳皮質だけでも、マウスで400万、ヒトで200億ものニューロンが存在し、分類の仕方によって十種類から数十種類ものサブタイプに分けられる。これらのニューロンはサブタイプごとに、あるいは分化段階ごとに、そして関連する回路ごとに異なる機能を担っている。究極的には1つ1つのニューロンが脳内でどのような役割を果たすか、そしてその基盤メカニズムを知ることが神経科学の1つの目標である。

多細胞生物の体内で同一のゲノムが細胞種ごとに異なる機能を制御できる1つの理由は、DNAやヒストンに施される化学修飾などによって遺伝子の転写を制御するエピゲノムである。そのため、異なる種類(サブタイプ・分化段階・回路)のニュー

ロンの機能の一部はエピゲノムによって制御されている可能性がある。しかしながら、機能や種類が異なるニューロンごとのエピゲノム状態の比較は、誰でも簡便にできるわけではなく報告も限られている。また*c-Fos*や*Egr3*などの最初期遺伝子の発現をリアルタイムで捉えて、活動状態に応じて単離することは現在では技術的に難しい。

本研究では、ニューロンごとに異なる機能の基盤として、エピゲノムがどのような役割を果たしているか?という学術的「問い」に、誰でも簡便に野生型のニューロンから機能や種類が異なるニューロン核を単離できる技術を確認することで答えることを目指す。



適応回路を規定する1細胞空間エピゲノムセンサ技術の確立

Schwartz U, Komatsu T et al. (2023) Changes in adenoviral chromatin organization precede early gene activation. EMBO J. 2023 Oct 4;42(19):e114162.

Suzuki T[†], Komatsu T[†], Shibata H[†] et al. (2023) Crucial role of iron in epigenetic rewriting during adipocyte differentiation mediated by JMJD1A and TET2 activity. Nucleic Acids Res. 2023 Jul 7;51(12):6120-6142. ([†]Equal contribution)

Suzuki T, Hayashi M, Komatsu T et al. (2021) Measurement of the nuclear concentration of α-ketoglutarate during adipocyte differentiation by using a fluorescence resonance energy transfer-based biosensor with nuclear localization signals. Endocr J. 2021 Dec 28;68(12):1429-1438.

Komatsu T et al. (2018) In vivo labelling of adenovirus DNA identifies chromatin anchoring and biphasic genome replication. J Virol. 2018 Sep;92(18):e00795-18.

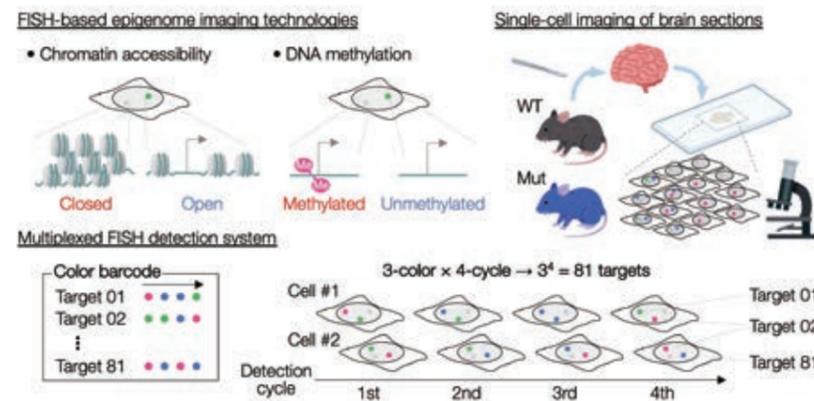


群馬大学
生体調節研究所
小松 哲郎 講師

動物の行動適応の基盤となる、神経細胞ネットワークの構築機構や動的性質の理解には、1細胞解像度での解析が必須である。しかし、1細胞シーケンシング解析では、細胞の分離・可溶化に伴い、細胞の形態や組織内局在といった「空間情報」が失われる。そのため、空間情報を保持したままイメージングにより網羅的解析を行う空間オミクス技術が、現在注目を集めている。例えば、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) 法を基盤としたトランスクリプトーム解析技術は、転写産物である mRNA を網羅的に検出することで、細胞ごとの遺伝子発現プロファイリングを可能とする。一方、遺伝子の ON/OFF を決定する上流の分子機構、すなわち発現すべき遺伝子の選択を担う転写制御因子のゲノム結合には、クロマチンの化学修飾

飾やアクセシビリティといったエピゲノム制御が重要な役割を果たす。しかし、エピゲノムを1細胞レベル且つ高空間解像度で解析する技術は未だ限られており、神経回路の構築・遷移を規定するエピゲノム制御機構の詳細は、未だ不明である。

我々は、蛍光イメージング解析と次世代シーケンサーを用いたオミクス解析を両軸とした研究を展開している。上記背景の下、近年は特に FISH 法を応用した空間エピゲノム解析技術の開発を推進している。本研究では、クロマチンアクセシビリティや DNA メチル化といった、ゲノム領域特異的なエピゲノム状態を FISH により可視化する独自イメージング技術をマウス脳組織切片に適用し、適応脳機能を担うゲノム領域及びそのエピゲノム制御の、1細胞解像度での包括的理解に挑む。



高効率越シナプス性 AAV ベクター変異体の開発

Kawabata et al. (2024) Improving cell-specific recombination using AAV vectors in the murine CNS by capsid and expression cassette optimization. Mol Ther Methods Clin Dev 32:101185.

Okada et al. (2022) Development of microglia-targeting adeno-associated viral vectors as tools to study microglial behavior in vivo. Commun Biol 5:1224.

Hoshino & Konno et al. (2021) GABAergic neuron-specific whole-brain transduction by AAV-PHP.B incorporated with a new GAD65 promoter. Molecular Brain 14:33.

Konno & Hirai (2020) Efficient whole brain transduction by systemic infusion of minimally purified AAV-PHP.eB. Journal of Neuroscience Methods, 346:108914.

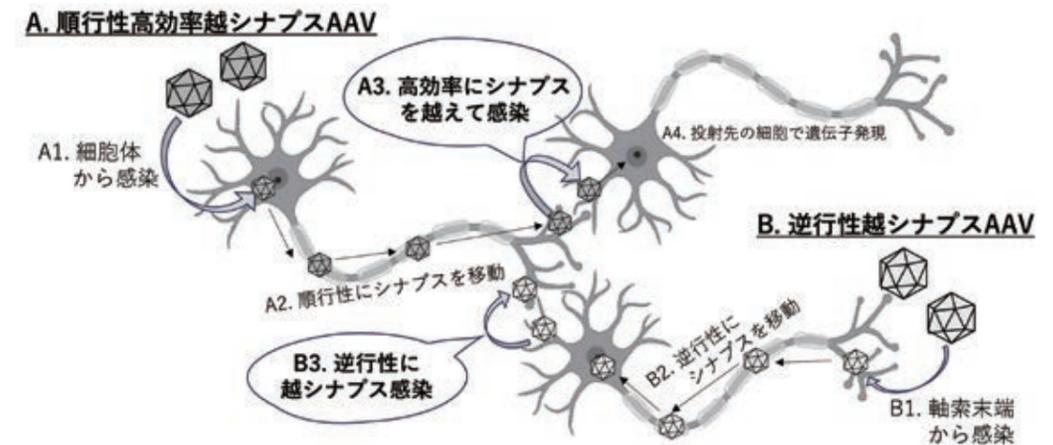


群馬大学
大学院医学系研究科
今野 歩 講師

生きた生物個体に高効率に外来遺伝子を送達できるウイルスベクターが、神経科学研究で広く活用されている。特に、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターは、脳内の幅広い細胞種に高効率に感染し、細胞毒性や免疫原性も非常に低いことから、脳への遺伝子導入に最適なベクターとして認知されている。

一方、本学術変革領域が対象とする適応に伴って変化する責任回路を特定するためには、ダイナミックに変化する神経回路を、蛍光タンパク質によって特異的に可視化する技術や、光/化学遺伝学分子の導入により特異的に操作する技術が重要となる。そこで本研究課題では、このような手段を効率化する技

術として、高効率な越シナプス性 AAV ベクターの開発に取り組む。現在でも AAV 血清型1 (AAV1) および AAV9 が順行性の越シナプス能を持つ事や、狂犬病ウイルスが逆行性の越シナプス能を持つ事が知られているが、前者は効率が極めて低いため使いづらく、後者は法規制上の理由や細胞毒性の面で使い勝手が悪い。この問題を解決するため、分子進化工学的 AAV 変異体改変手法を用いて、高効率な順行性 (下図 A) および逆行性 (B) の越シナプス性 AAV ベクターを開発し、シナプス結合のある回路を特異的に可視化・操作する技術の開発に取り組む。



時空間的プロテオーム技術による適応神経回路の分子機序の網羅的解析

Ito Y et al. (2024) Synaptic proteomics decode novel molecular landscape in the brain. *Front Mol Neurosci*. Volume 17.
 Takano T et al. (2021) Tripartite synaptomics: Cell-surface proximity labeling in vivo. *Neuro Res*. 173:14-21.
 Takano T et al. (2020) Chemico-genetic discovery of astrocytic control of inhibition in vivo. *Nature*, 588(7837) 296-302.



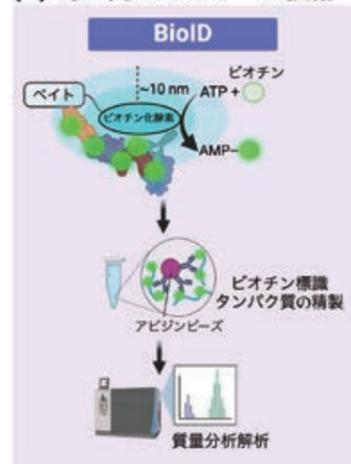
九州大学高等研究院
 生体防御医学研究所 脳機能分子システム分野
 JST さきがけ兼任

高野 哲也 准教授

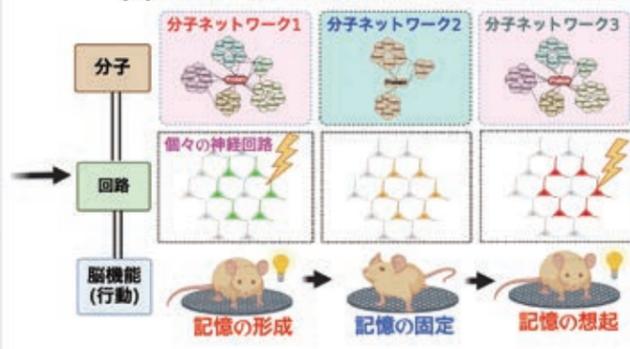
脳内には、約150兆個のシナプスが存在し、多様な脳機能を担う神経回路を形成する。これらの神経回路の活動は、私たちの行動や経験に応じて日々変化している。しかし、それぞれの神経回路がどのように形成され、変わりゆく脳機能を制御しているか依然として不明なままである。この理由は、一個の神経細胞が形成するシナプスは多様であるため、従来の手法では脳機能と関連した個々の神経回路に特化したシナプス構成分子群を解析することができなかつたからである。近年、生体内のシナプス近傍分子群をビオチン標識する近位依存性ビオチン標識 (BioID) 法が開発され、シナプスという大きな枠組みから興奮性シナプスと抑制性シナプスという2種類のシナプス

に大別して高い空間解像度での分子解析ができるようになった(上江洲ら, *Science*, 2016)。さらに最近、申請者は高活性型ビオチン化酵素 TurboID を N 末端と C 末端に分割し、特定の細胞間接着部位でのみ再構成させることで細胞間隙に存在する分子成分を網羅的に同定する Split-TurboID 法を開発した(高野ら, *Nature*, 2020)。本研究課題では、これらの BioID 法を応用することで、特定のタイムスケールで個々の神経回路機能を制御する分子成分を網羅的に探索する為の時空間プロテオーム技術を開発する。そして、個々の適応回路の形成機構と生理的意義の詳細な分子機序を明らかにすることによって、脳の動作原理及び精神・神経疾患の病態の解明を進める。

(1) 時空間プロテオーム技術



(2) 適応回路における分子変動の網羅的解析



神経回路イメージングに基づくクロマチンセンサス

Honda M et al. (2022) Photo-isolation chemistry for high-resolution and deep spatial transcriptome with mouse tissue sections. *STAR Protoc*. 3(2):101346.
 Katada M et al. (2021) Neural stem/precursor cells dynamically change their epigenetic landscape to differentially respond to BMP signaling for fate switching during brain development. *Genes Dev*. 35(21-22):1431-1444.
 Honda M et al. (2021) High-depth spatial transcriptome analysis by photo-isolation chemistry. *Nat. Commun*. 12(1):4416.
 Honda M et al. (2017) PRMT1 regulates astrocytic differentiation of embryonic neural stem/precursor cells. *J. Neurochem*. 142(6) 901-907.

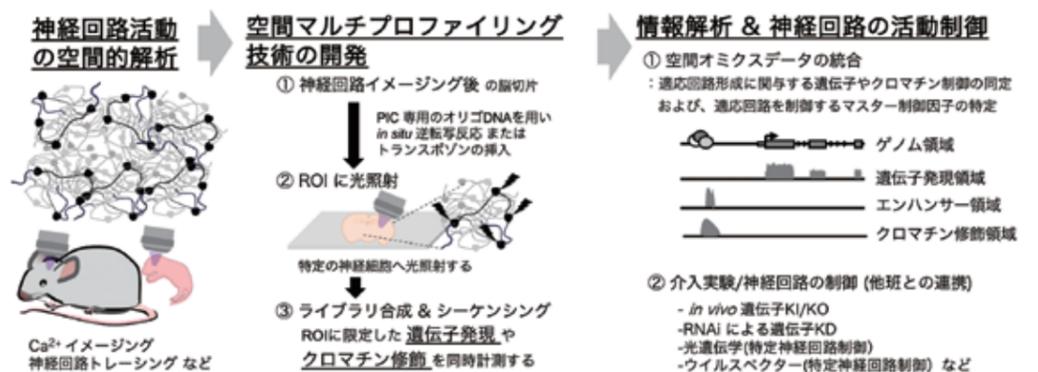


広島大学大学院
 統合生命科学研究所

本田 瑞季 助教

神経回路の可塑性は、個々が新しい情報を学び、環境に適応するために不可欠です。しかし、この高い可塑性は同時に環境ストレスに対する脆弱性を意味し、特に発達時期におけるストレスは神経系に長期的な影響を及ぼす可能性があります。また、神経活動の変化と遺伝子発現の関係を理解することは、神経回路の基本的な機能や神経疾患の解明に不可欠です。近年、イメージング技術の進歩により、神経細胞の活動や挙動を観察することが可能であり、適応回路を構成する神経細胞が多数同定されています。しかし、これらの細胞が適応回路形成においてどのような制御を受け、遺伝子発現がどのように変動するのかについてはまだ十分に理解されていません。これまでに、私たちは組織切片や培養細胞の関心領域 (ROI) に光照射することで、ROI に限定された高深度の遺伝子発現情報を得る

技術である光単離化学 (Photo-Isolation Chemistry, PIC) を開発してきました。また、PIC の改良を進め、ROI に限定した遺伝子発現だけでなく、クロマチン修飾を含む遺伝子発現制御を解析できる技術の確立にも取り組んできました。しかし、現行の PIC 技術では、1回の実験で遺伝子発現と制御情報を同時に検出することはできません。そこで、本研究では、PIC をさらに改良し、イメージングに基づいて、神経細胞や神経回路の発火時の遺伝子発現とその制御情報を同時に抽出できる新たな空間マルチプロファイリング技術の開発を目指します。また、開発した技術を活用することで、活動変化する神経細胞の制御ネットワークを解明し、適応回路の正常な機能や適応回路の破綻により生じる神経疾患の理解に貢献することを目指します。



令和3年度～令和7年度 学術変革領域研究 (A)

神経回路センサスに基づく適応機能の構築と遷移バイオメカニズム

適応回路センサスニュースレター第4号



発行日：令和7年3月14日

編集人：藤山 文乃

発行人：磯村 宜和

「適応回路センサス」領域事務局

東京科学大学大学院医歯学総合研究科細胞生理学分野

〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45 M&Dタワー17F

E-mail : acc-jimu.phy2@tmd.ac.jp

<https://ac-census.org/>