

プロジェクト名(タイトル):

scRNA-seq によるゼブラフィッシュ嗅上皮の遺伝子発現解析

利用者氏名:

○高岡 美渚季 (1)

理研における所属研究室名:

(1) 脳神経科学研究センター システム分子行動学研究チーム

1. 本プロジェクトの研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

ゼブラフィッシュはアミン類に対し高い識別能力を持ち、生理活性アミンも匂いの物質として受容することが示唆されている。我々のチームでは生理活性アミン X に着目し、受容された後の行動発現や嗅覚神経回路の解析により匂いの物質としての機能解明を目指している。本研究では X を用いてゼブラフィッシュに匂い刺激を行った後、嗅上皮を採取し single cell RNA-sequencing により網羅的な遺伝子発現解析を行う。これにより従来の方法では困難であった嗅覚受容体遺伝子の同定や機能の解析が可能となることが期待される。single cell RNA-sequencing のデータは 10,000 個以上の細胞がそれぞれ発現する全ての遺伝子情報を含んでいるため、解析には膨大な量の計算を要し、スーパーコンピューターHOKUSAI の使用が必要である。

2. 具体的な利用内容、計算方法

X で刺激したゼブラフィッシュの嗅上皮を採取後、10x Chromium システムのプロトコールに従い single cell barcoding と逆転写、cDNA ライブラリー調整を行う。cDNA を次世代シーケンス解析し、得られたリードを FASTQ 形式ファイルとして HOKUSAI に移動させ、10 x Genomics 社解析ソフト Cell Ranger7.1.0 を実行して遺伝子リードをゼブラフィッシュのリファレンス配列にマッピングする。続いて SATIJA Lab の R パッケージ Seurat を用いてデータ解析を行う。

3. 結果

初回実験のサンプルデータについて、HOKUSAI を用いて次世代シーケンス解析のリードデータをゼブラフィッシュリファレンス配列にマッピングした。得られたデータを Seurat を用いて解析した結果、10,000 個以上の嗅細胞から目的とされていた遺伝子を高発現する細胞群を同定に至った。今後この細胞群における遺伝子発現解析を詳細に行うことで、

生理活性アミン X の受容体候補遺伝子を同定することが可能になると考える。

4. 今後の計画・展望

本研究により生理活性アミン X の受容体遺伝子を同定することが出来れば、我々のチームの先行研究の結果と併せて X を嗅上皮で受容後、嗅球さらには高次中枢へと至る嗅覚神経回路の全貌が解明されることになる。今後、従来の方法では困難であった未知の受容体遺伝子同定のための新たな手法となることも期待される。