

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	任意の細胞に隣接した細胞を遺伝的にマーキングする方法の開発				
研究テーマ (欧文) AZ	Development of a method to genetically mark cells that have contacted to any selected cells				
研究氏 代 表 者	カタカナ CC	姓)カタオカ	名)コウスケ	研究期間 B	2015 ~ 2016 年
	漢字 CB	片岡	浩介	報告年度 YR	2016 年
	ローマ字 CZ	KATAOKA	KOHSUKE	研究機関名	横浜市立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	横浜市立大学 生命医科学研究科・准教授				
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)	<p>哺乳類を含む多細胞生物の発生過程は、細胞や組織がシグナルをやりとりすることで進行する。細胞間の接触はしばしば一過的であり、その後に互いの位置関係が変わってしまうと、事後に特定することは困難になる。このような発生学・医学上の問題の解決に供するため、任意の細胞に隣接した細胞を遺伝的にマーキングする方法の開発を行うこととした。</p> <p>このため、細胞表面の受容体とリガンドである Notch-Delta の線虫 <i>C. elegans</i> ホモログ(Lin12 および Lag2)を哺乳類の培養細胞でそれぞれ別個に発現させ、細胞どうしが隣接して Lin12-Lag2 の相互作用が生じた場合にのみ、Lin12 の細胞内ドメインが膜内切断されるような仕組みの構築を目指した。この際に、Lin12 の細胞内ドメインを DNA 組換え酵素 FLPe に置換しておけば、相互作用が生じた場合に遺伝的マーキングが起きる。</p> <p>まず、Lin12 の細胞内ドメインを FLPe と置換した融合タンパク質と、リガンド Lag2 を、培養細胞で発現させて隣接させたが、Lin12 の切断とそれに伴う DNA 組換えは起きなかった。そこで、Lin12-Lag2 の認識には影響しない領域(シグナルペプチド、細胞膜貫通領域や LNR 領域、Mindbomb と結合する細胞内領域)をマウスのもので置換したさまざまなキメラ分子を作製した。これらの工夫にも関わらず、期待される動作を示す分子のペアを得ることはできなかった。</p> <p>この過程で、同様のアイデアに基づく synNotch システムが報告され(Morsut ら Cell 164:780- (2016))、残念ながら競争に敗れる結果となってしまった。応用例も報告され(Roybal ら Cell 164:770- (2016)) (Huang ら Development 143:4073- (2016))、多分野の諸問題の解決への応用が期待される。</p>				
キーワード FA	細胞間シグナル	Notch 受容体	FLPe リコンビナーゼ	遺伝子工学	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC					シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Development of multicellular organisms including mammals relies on intercellular signaling events. In case that cell-cell contact is transient, it is difficult to identify cells that have contacted to any particular cell at later developmental stage. To overcome this difficulty, we tried to develop a method to genetically label cells that have contacted to any selected cells.

We utilized Notch-Delta homologs of *C. elegans* (Lin12 and Lag2) in mammalian cells. The intracellular domain of Lin12 should be cleaved only when the cell makes contact with Lag2-expressing cells. By replacing the intracellular domain of Lin12 with FLPe recombinase, one can expect that the cell can be genetically labeled using Flp-mediated DNA recombination system.

We established cells that express Lin12-FLPe fusion protein or the ligand Lag2 protein, respectively, but we could not observe contact-dependent cleavage of FLPe nor DNA recombination. We therefore constructed various chimeric receptors and ligands by replacing their signal peptides, transmembrane domains, LNR region, and intracellular domains, but any of the constructs did not work as we expected.

Unfortunately, other research group has recently reported a cell-labeling system, named synNotch, based on a concept similar to ours (Morsut *et al.*, *Cell* 164:780- (2016)). Its application to anti-tumor therapy and developmental biology have also been reported (Roybal *et al.*, *Cell* 164:770- (2016), Huang *et al.*, *Development* 143:4073- (2016)) indicating that this novel technology would be a promising tool to solve a wide variety of unanswered problems.