

2021 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	山本 拓也
研究機関名	京都大学
所属部署名	iPS 細胞研究所
役職名	准教授
研究課題名	細胞運命を制御する空間トランスクリプトミクス
研究実施期間	2021 年 4 月 1 日～2022 年 3 月 31 日

研究成果の概要

本研究は、細胞内 RNA 局在制御機構の全体像を解明し、それら制御機構が細胞運命変換過程でどのような役割を担うのかを明らかにすることを目的とする。今年度は、APEX-seq を用い、多能性幹細胞および分化細胞において細胞内の特定の場所に局在する RNA の同定を試みた。APEX2（ダイズ由来の改変型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ）は、細胞内において過酸化水素存在下で外部から添加した細胞膜透過性のビオチンフェノールを基質とし、反応活性位置から数 nm 以内に存在する RNA にビオチンを付加することができる。それらビオチン標識された RNA を回収し、シーケンスすることで細胞内の特定の場所に局在する RNA を検出することができる。我々は、まず iPS 細胞を用いて、ミトコンドリアおよび核に局在する RNA を解析した結果、それぞれミトコンドリアゲノム由来 mRNA および核に局在することが知られている non-coding RNA を検出できることを確認した。次に、さまざまな細胞内小器官や細胞骨格タンパク質に局在する RNA を網羅的に解析した。一部の場所では RNA の濃縮が観察されなかったため、4-チオウリジンによる RNA へのビオチン標識の効率化を実施した。その結果、それぞれの場所で局在する RNA を数十から数百同定することができた。また、細胞分化前後で局在が変化する RNA の同定にも成功した。また、in situ seq を利用した HybISS (Gyllborg et al., Nuc. Acid Res. 2020) の立ち上げに成功し、多能性幹細胞の分化過程において RNA の細胞内局在を直接観察できることが可能となった。今後、APEX-seq で同定した RNA の特徴をさまざまな観点から調べるとともに、HybISS を用いたより詳細な RNA の局在化の挙動を解析し、RNA の細胞内制御メカニズムの解明を目指す。