

Title	トランスポゾンによる時系列特異的ニューロンサブタイプ分化の制御
Sub Title	Temporal regulation of neuron subtype differentiation via transposons.
Author	島崎, 琢也(Shimazaki, Takuya)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2022
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2021. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>神経幹細胞(NSCs)の様々なニューロンサブタイプへの分化能は時空間的に厳密に制御されている。最近我々は、分化能が変化した発生後期の様々な領域のNSCsに同時強制発現させると、発生初期に特異的に分化するニューロンへの分化能を回復させることができる転写制御因子の最小セットとしてZfp7, Zfp57およびPhf21bを同定した。これらは全てエピゲノム制御に関与することが知られている転写因子ファミリーに属していた。次に、これらの機能解析を、マウス胎仔脳における強制発現と遺伝子ノックダウンを中心として行った。マウス胎生13日目(E13)の大脳皮質に脳室側からエレクトロポレーションによってこれら3因子を同時強制発現させ、E17で組織学的解析を行うと、E13では分化が収束してきている深層ニューロンが増加した。また、E13の大脳基底核原基の初代培養細胞においてこれら3因子の強制発現をレンチウイルスベクターを用いて行くと、通常は産生が終了しているIsl1陽性ニューロンが顕著に増加した。さらにE13の中脳腹側部の初代培養細胞に強制発現させると、これも分化が終了しているTH陽性のドーパミン作動性ニューロンが増加した。一方、E11大脳皮質初代培養細胞において、これらの遺伝子のノックダウン(KD)をレンチウイルスベクターを用いて行くと、深層ニューロンの数が低下し、逆に発生後期型の表層ニューロンのマーカーであるSATB2陽性細胞が顕著に増加した。さらに、同様のKDをE11大脳基底核原基および中脳腹側部の初代培養細胞で行うと、それぞれIsl1陽性ニューロンおよびTH陽性ドーパミン作動性ニューロンの数が低下した。そして、これらの強制発現あるいはKDによる遺伝子発現変動を、RNAseqによって解析したところ、特にRNAプロセッシングや翻訳制御に関わる遺伝子に顕著な発現変化が観察された。</p> <p>The differentiation potential of neural stem cells (NSCs) into various neuronal subtypes is tightly regulated in space and time. Recently, we have identified Zfp7, Zfp57, and Phf21b as a minimal set of transcriptional regulators in which their simultaneous forced expression in NSCs at late developmental stage can restore differentiation potential to neurons that differentiate specifically in early development in various regions. These factors all belong to families of transcription factors known to be involved in epigenetic regulation. Next, we performed functional analyses of these transcription factors via their forced expression and gene knockdown in fetal mouse brain. Simultaneous forced expression of Phf21b, Zfp7, and Zfp57 in the cerebral cortex of embryonic day 13 (E13) mice by electroporation from the ventricular side and histological analysis at E17 resulted in an increase of deep-layer neurons. Forced expression of these three factors in primary cultures from the ganglionic eminence of E13 using lentiviral vectors showed a marked increase in Isl1-positive neurons whose generation is normally terminated at this stage. Forced expression of these three factors in primary cultured cells from the ventral midbrain of E13 also increased generation of TH-positive dopaminergic neurons, which is also normally terminated at this stage. On the other hand, knockdown (KD) of these genes in primary cultures from the E11 cortex using lentiviral vectors resulted in a decrease in the number deep layer neurons and, conversely, a marked increase in SATB2-positive cells, a marker for upper layer neurons which are normally generated at late developmental type. Furthermore, similar KD in primary cultures from the E11 ganglionic eminence and ventral midbrain reduced the number of Isl1-positive neurons and TH-positive dopaminergic neurons, respectively. Analyses of gene expression changes in these forced expression and KD- by RNAseq revealed that significant expression changes were observed, especially in genes involved in RNA processing and translational regulation.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2021000003-20210237">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2021000003-20210237</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	准教授	補助額	300 (A) 千円
	氏名	島崎 琢也	氏名 (英語)	Takuya Shimazaki		
研究課題 (日本語)						
トランスポゾンによる時系列特異的ニューロンサブタイプ分化の制御						
研究課題 (英訳)						
Temporal regulation of neuron subtype differentiation via transposons.						
1. 研究成果実績の概要						
<p>神経幹細胞(NSCs)の様々なニューロンサブタイプへの分化能は時空間的に厳密に制御されている。最近我々は、分化能が変化した発生後期の様々な領域の NSCs に同時強制発現させると、発生初期に特異的に分化するニューロンへの分化能を回復させることができる転写制御因子の最小セットとして Zfp7, Zfp57 および Phf21b を同定した。これらは全てエピゲノム制御に関与することが知られている転写因子ファミリーに属していた。次に、これらの機能解析を、マウス胎仔脳における強制発現と遺伝子ノックダウンを中心として行った。マウス胎生 13 日目(E13)の大脳皮質に脳室側からエレクトロポレーションによってこれら3因子を同時強制発現させ、E17 で組織学的解析を行うと、E13 では分化が収束してきている深層ニューロンが増加した。また、E13 の大脳基底核原基の初代培養細胞においてこれら3因子の強制発現をレンチウイルスベクターを用いて行うと、通常は産生が終了している Isl1 陽性ニューロンが顕著に増加した。さらに E13 の中脳腹側部の初代培養細胞に強制発現させると、これも分化が終了している TH 陽性のドーパミン作動性ニューロンが増加した。一方、E11 大脳皮質初代培養細胞において、これらの遺伝子のノックダウン(KD)をレンチウイルスベクターを用いて行うと、深層ニューロンの数が低下し、逆に発生後期型の表層ニューロンのマーカーである SATB2 陽性細胞が顕著に増加した。さらに、同様の KD を E11 大脳基底核原基および中脳腹側部の初代培養細胞で行うと、それぞれ Isl1 陽性ニューロンおよび TH 陽性ドーパミン作動性ニューロンの数が低下した。そして、これらの強制発現あるいは KD による遺伝子発現変動を、RNAseq によって解析したところ、特に RNA プロセッシングや翻訳制御に関わる遺伝子に顕著な発現変化が観察された。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>The differentiation potential of neural stem cells (NSCs) into various neuronal subtypes is tightly regulated in space and time. Recently, we have identified Zfp7, Zfp57, and Phf21b as a minimal set of transcriptional regulators in which their simultaneous forced expression in NSCs at late developmental stage can restore differentiation potential to neurons that differentiate specifically in early development in various regions. These factors all belong to families of transcription factors known to be involved in epigenetic regulation. Next, we performed functional analyses of these transcription factors via their forced expression and gene knockdown in fetal mouse brain. Simultaneous forced expression of Phf21b, Zfp7, and Zfp57 in the cerebral cortex of embryonic day 13 (E13) mice by electroporation from the ventricular side and histological analysis at E17 resulted in an increase of deep-layer neurons. Forced expression of these three factors in primary cultures from the ganglionic eminence of E13 using lentiviral vectors showed a marked increase in Isl1-positive neurons whose generation is normally terminated at this stage. Forced expression of these three factors in primary cultured cells from the ventral midbrain of E13 also increased generation of TH-positive dopaminergic neurons, which is also normally terminated at this stage. On the other hand, knockdown (KD) of these genes in primary cultures from the E11 cortex using lentiviral vectors resulted in a decrease in the number deep layer neurons and, conversely, a marked increase in SATB2-positive cells, a marker for upper layer neurons which are normally generated at late developmental type. Furthermore, similar KD in primary cultures from the E11 ganglionic eminence and ventral midbrain reduced the number of Isl1-positive neurons and TH-positive dopaminergic neurons, respectively. Analyses of gene expression changes in these forced expression and KD- by RNAseq revealed that significant expression changes were observed, especially in genes involved in RNA processing and translational regulation.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			