

## 《 特定の神経細胞小集団を標識するプロモータ 》

### ＜発明概要＞

生きた動物の大脳皮質や海馬における特定の神経細胞小集団を標識、可視化することを可能にする「細胞特異的プロモータ」に関する発明である。

哺乳動物の中樞神経系は、多種多様な神経細胞の複雑な回路結合によって高次脳機能を発揮しているため、脳機能や脳疾患病態を研究するためには、特定の少数の神経細胞を標識して経時変化を観察したい、という強いニーズがある。少量のウイルスベクターを大脳皮質に注射することで神経細胞を標識する技術はあるが、この場合はランダムに選択された神経細胞で遺伝子発現が生じてしまい、個体間での形態比較などは困難である。

### ■本発明

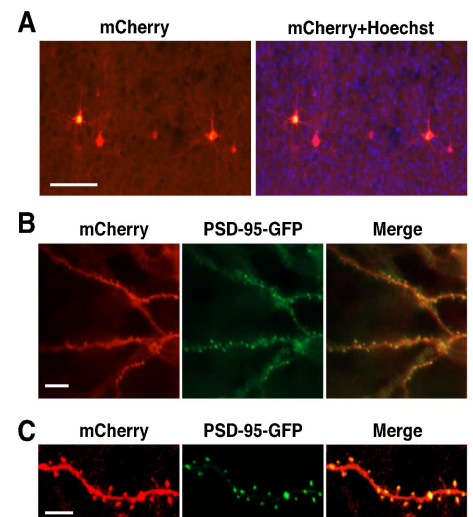
今回開発したプロモータを子宮内電気穿孔法でマウスの胎児の生体脳に導入したところ、発現誘導における細胞型特異性が向上し、大脳皮質及び海馬における特定の細胞小集団においてのみ、特異的に遺伝子発現を誘導できることを見出した。単一の神経細胞小集団において複数の蛍光タンパク質を同時に可視化することも出来るため、神経細胞の機能の解明に有用である。

### 【実施例：マウスの単一神経細胞における複数の蛍光タンパク質の発現と画像化】

本発明のプロモータ制御下で、PSD-95-GFP, mCherryの2つの蛍光タンパク質をマウスに共発現させ、インビボでの軸索及び樹状突起の可視化を確認した。

子宮内電気穿孔法を用いて、複数プラスミドを大脳皮質 2/3 層の神経細胞内に共導入した。15 日後に皮質を検査したところ、2/3 層の神経細胞小集団のみが mCherry 及び PSD-95-GFP を強く発現していることが確認された(右図 A,B 参照)。高倍率観察によれば、GFP 陽性点状蛍光がスパインに位置していた(右図 C)。

⇒本プロモータを用いることによって、単一神経細胞小集団を複数の蛍光タンパク質で同時に標識し、生体動物の脳内での神経細胞の複数特性を経時的に同時観察できることが示された。



### ■特徴

- 発現量が多いため、生きた動物の脳内での観察に使用することができる。
- アルツハイマー病などの神経変性疾患や精神発達障害に関与する大脳皮質、海馬で使用することができる。
- 投与するプラスミドベクターの量で、陽性細胞密度を容易に調節することができる。
- 手間と労力を要すトランスジェニック法と比較して、遺伝的背景に関係なく、簡便に、生体動物の中で目的遺伝子を発現させることができる。
- 神経細胞特性を異なる動物個体間で比較・解析することが容易である。
- 光学的技術(optogenetics)、コンディショナルノックアウトマウス、疾患病態マウスなどとの組み合わせが可能。生理的または病的状態にある生体動物における神経細胞の複数特性をインビボで同時解析することができる。

＜発明者＞ 東京大学医学部付属病院 神経内科学 河崎 洋志 特任准教授 他

＜備考＞ 特許出願済み

### ＜お問合せ先＞

株式会社 東京大学 TLO (CASTI) 梅田 絢(うめだ あや)

Tel: 03-5805-7671 Email: [umeda@casti.co.jp](mailto:umeda@casti.co.jp) HP: <http://www.casti.co.jp/>