

創発的研究支援事業

終了報告書

研究担当者	鈴木 淳
研究機関名	京都大学
所属部署名	高等研究院 物質 - 細胞統合システム拠点
役職名	教授
研究課題名	革新的技術の創成による脂質を介した細胞間相互作用の解明
研究実施期間	2022 年 4 月 1 日～2023 年 3 月 31 日

研究成果の概要

創発研究においては、生きたマウスの臓器を用いた網羅的スクリーニング系を樹立することを目標とした。具体的には、Cas9 ノックインマウスの精巣を標的とした CRISPR スクリーニングを実施した。生後 11 日のマウス精巣に sgRNA ライブラリーをコードしたレンチウイルスを感染させ、2 か月後、それより発生してくる精子を取り出し受精能獲得刺激を行い、カルシウム流入の起こらない精子を、フローサイトメトリーを用いて取得した。ゲノム DNA を取得後、組み込まれた sgRNA 領域を用いて濃縮のかかったレンチウイルスベクターを再構成した。これを用いて再度ウイルスを作製し、精巣に感染させ、カルシウム流入に異常をきたす精子を取得し、組み込まれた sgRNA を次世代シーケンサーで解析した。その結果、複数の因子を同定したが、精子の機能を制御する因子として Retinal Degeration Protein 3 (RD3) に注目して研究を進めた。細胞株を用いた実験の結果、RD3 はミトコンドリア局在を制御し、細胞内 Reactive Oxygen Species (ROS) レベルをコントロールしていることが分かった。以上より、マウス臓器を用いたスクリーニング系を樹立し、それを用いて精子の発生に重要な因子を同定できた点において本研究は意義があると考えられる。