

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	循環器組織の遺伝子転写物をターゲットとしたトランスクリプトーム解析法の検討				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	清水 聡史
		所属・職名	薬学部・教授	氏名	黒川 洵子
		所属・職名	薬学部・准教授	氏名	坂本 多穂
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	児玉 昌美
		所属・職名	薬食生命科学総合学府 ・博士課程1年	氏名	鄭 多訓
		所属・職名	薬学部・学部 5 年	氏名	岸本 隼弥
		所属・職名	薬学部・学部 4 年	氏名	安藤 圭佑
	発 表 者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	清水 聡史

講演題目
左心室組織の遺伝子転写物をターゲットとした網羅的解析
研究の目的、成果及び今後の展望
心臓は左右の心室・心房に大きく分かれ、それぞれ機能が異なっている。シングルセル解析の結果でも心筋細胞は多数のクラスターに分かれ、それぞれの働く部位により心筋細胞の特徴が異なっていると推測されるが、シングルセル解析ではそのクラスターが心臓のどの部位に存在する細胞であるかはわからない。 心臓のポンプ機能において、左心室は全身に血液を送り出すポンプ機能の中心的な部位であり、効率的に収縮するために心内膜側、心外膜側で活動電位の伝播速度に差が生じているが、どのようにその違いを生じさせているかは不明である。そこで、本研究では、心臓を部位ごとに採取し、網羅的解析法の一つであるRNA-seqを行うことで心内膜側、心外膜側の心筋細胞の性差の違いを明らかにすることにした。 24週齢のマウスから心臓を単離し、ランゲンドルフ灌流を行うことで脱血をおこなった。その後、心臓を各部位に分取し、液体窒素で凍結した。その後、Direct-zol™ RNA Miniprepを用い、RNAの抽出・精製をおこなった。精製RNAのQCをAgilent2100で行い、ライブラリー調整はmRNA library preparation (polyA enrichment)で行った。その後、Novaseq X Plusによる150 bp のPair End sequencingを行い、>6 Gb のFASTQデータを取得した。取得したFASTQデータはReference配列をhg38(No alts, with decoy)とし、DRAGEN RNA Pipeline version 3.7.5 (Illumina)でマッピングとリード数のカウントを行った。DRAGEN FastQC + MultiQC version 3.9.5 (Illumina)にて出力データのクオリティコントロールを行った。得られた各遺伝子のカウント値から、DESeq2 version 1.44.0を用いて、Trimmed mean of M Value正規化を行った。 その結果、心内膜側特徴的な性差遺伝子を172個、心外膜側特徴的な性差遺伝子を143個同定した。また、両者で共通していた性差遺伝子を53個同定した。 現在、これらの遺伝子にどのような特徴があるのかEnrichment解析を行うとともに、心筋細胞活動電位に影響を与える可能性のあるイオンチャネル等の探索をおこなっている。 今後、他の部位のRNA-seq解析を合わせて行うことにより、各部位ごとに違いを明らかにすることができ、それらのデータとシングルセルのデータを合わせて解析することによって、心臓の機部位ごとの機能がどのように作り出されているかを明らかにしていきたい。