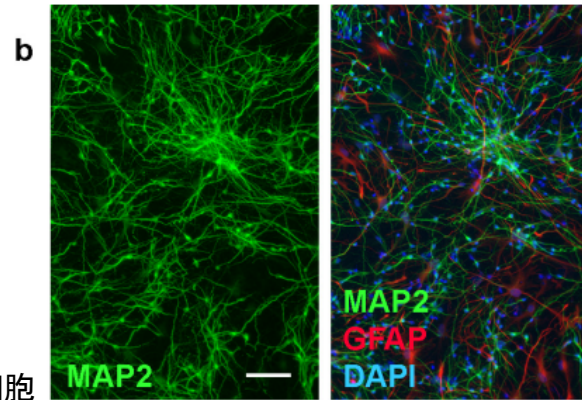


Human Fetal Brain Culture (hFBC; Extended Data Fig.1)

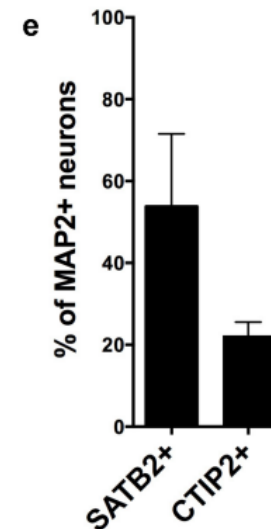
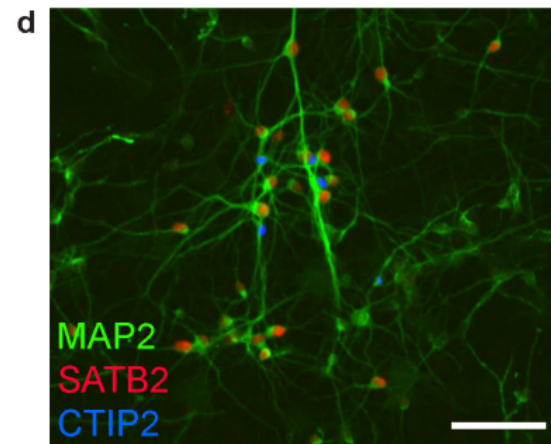
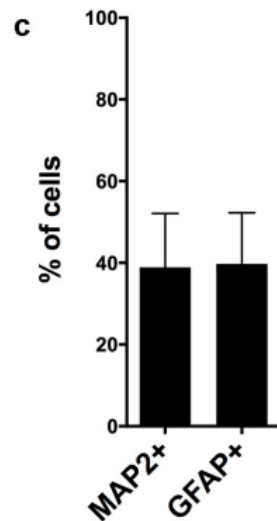
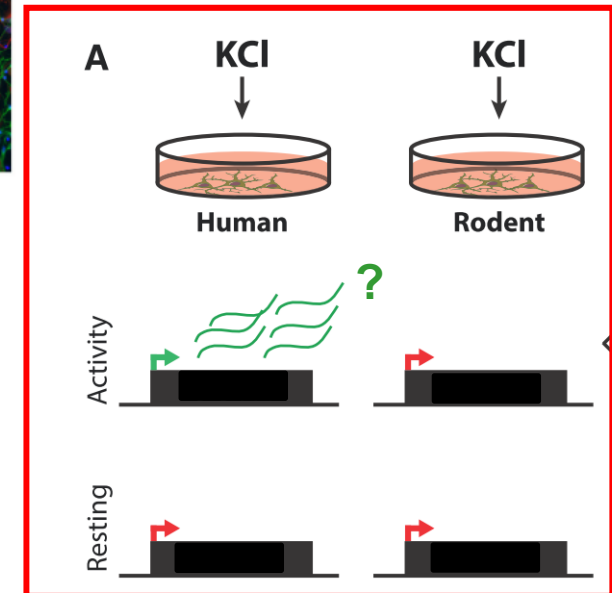
a

Sample	Age (Gestational Week)	Sex
H1	GSW 17	Female
H2	GSW 20	Female
H3	GSW 20	Male
H4	GSW 20	Female
H5	GSW 19	Female

妊娠中期の人工中絶胎児の脳由来の培養神経細胞



Strategy



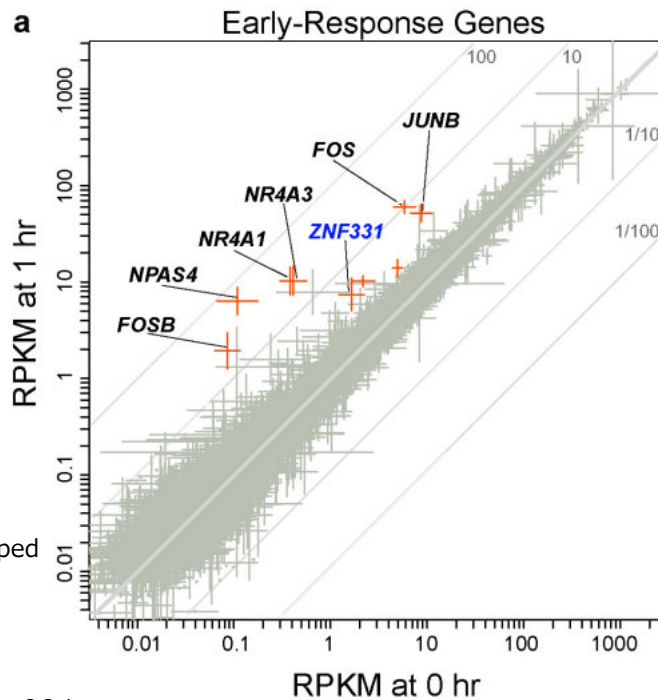
SATB2-layer II-III marker
CTIP2-layer V marker

■ 本研究の着眼点

ヒトの胎児脳の培養ニューロンを高カリウム培養液中で脱分極させ、神経活動で発現変動する遺伝子をスクリーニングする。マウスでは活動依存的に発現変化しないが、ヒトでは発現変化する遺伝子は存在するだろうか？

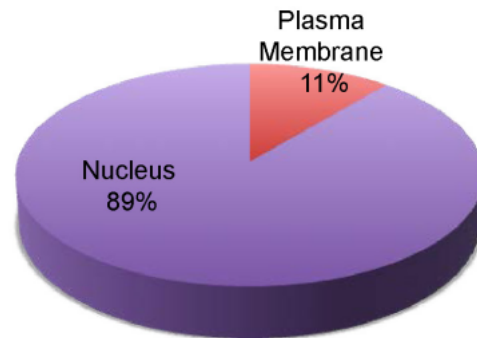
RNA-seq profiling of activity -dependent gene expression in hFBCs

1時間後



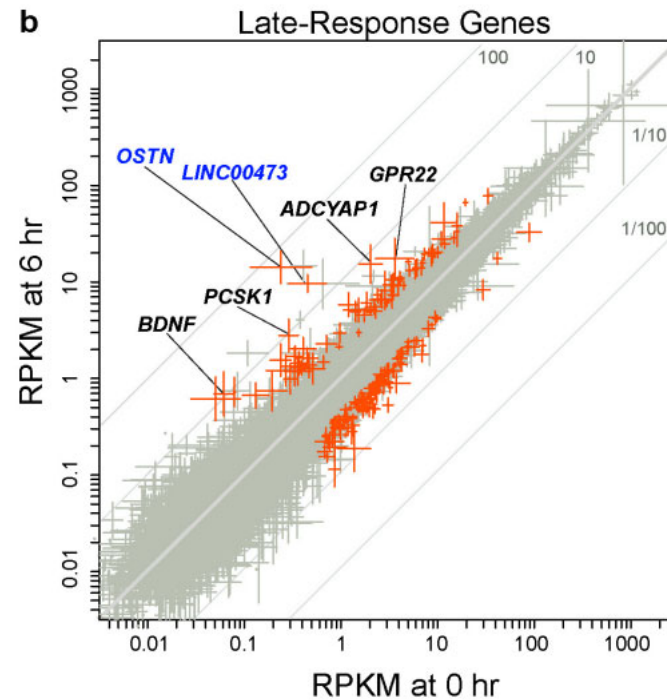
ZNF331
zinc finger protein 331

c



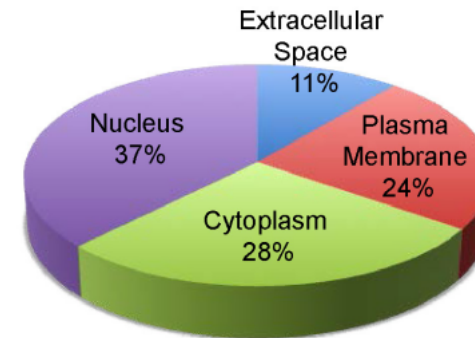
Early-Response Genes

6時間後



LINC00473
Long intergenic non-protein coding RNA 473

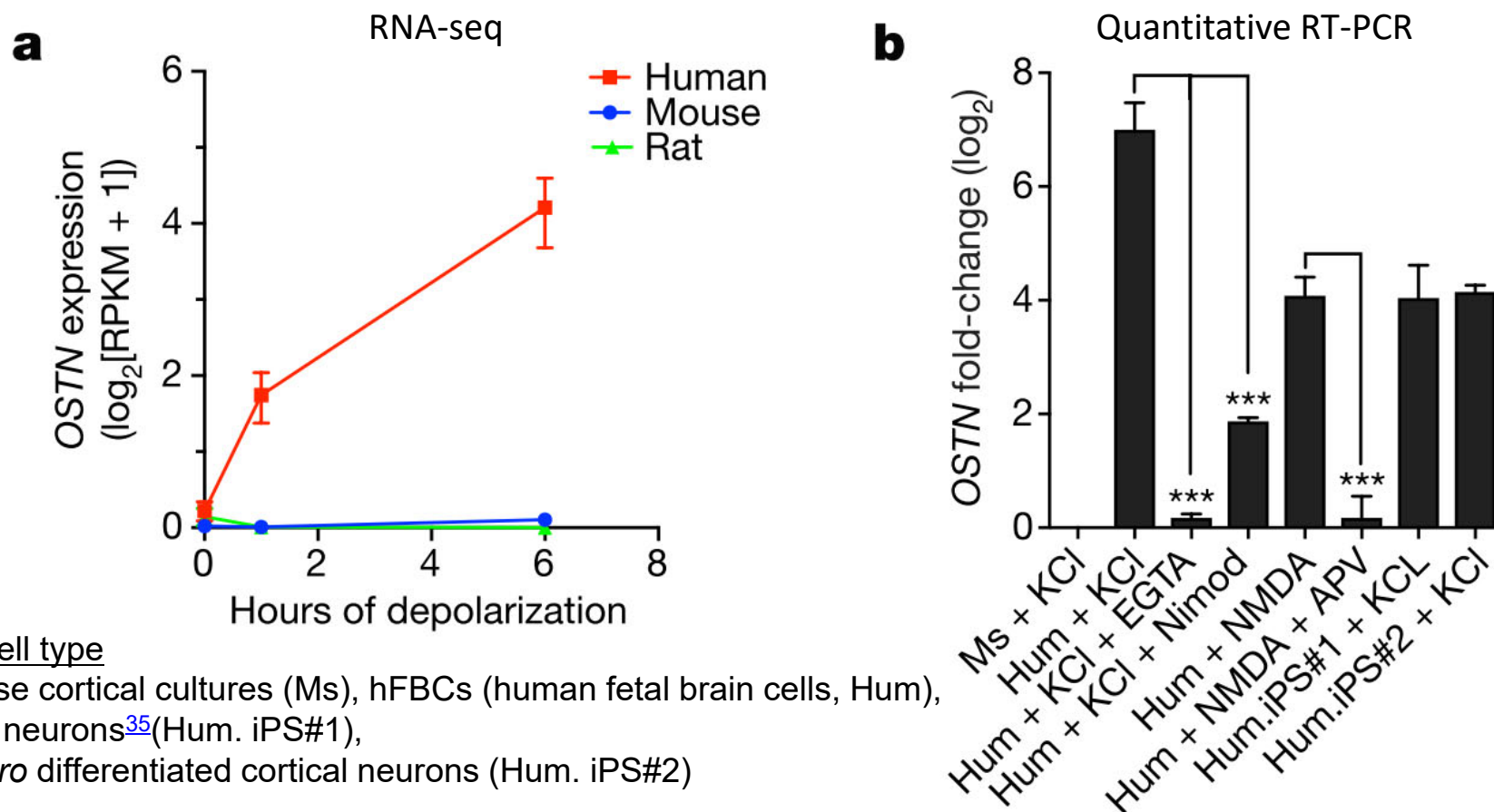
d



Late-Response Genes

高カリウム培地に置換してから1時間後と6時間後の遺伝子発現を次世代シーケンサーで調査した。活動依存的に発現が顕著に変動した遺伝子を赤で示している。その中でマウスでは活動で変動しない遺伝子を青字で示している。刺激後6時間で発現上昇する分子にOSTNが含まれていた。

OSTN is an activity-regulated factor in human neocortex (Fig.1)



Cell type

mouse cortical cultures (Ms), hFBCs (human fetal brain cells, Hum), iCell neurons³⁵(Hum. iPS#1), *in vitro* differentiated cortical neurons (Hum. iPS#2)

Treatment

KCl depolarization (KCl), glutamate receptor agonist (NMDA), calcium chelator (EGTA), L-type calcium channel blocker nimodopine (Nimod), NMDA agonist : N-メチル-D-アスパラギン酸
NMDA receptor antagonist (2-amino-5-phosphonovalerate; APV).

マウス、ラット、ヒト胎児の培養皮質ニューロンをKClで刺激するとヒトのニューロンだけでOSTNの発現が上昇する。発現上昇は、脱分極にともなうカルシウムシグナリング経路の活性化に依存する。