

「統合 1 細胞解析のための革新的技術基盤」
平成 27 年度採択研究代表者

H27 年度
実績報告書

石井 優

大阪大学大学院生命機能研究科
教授

動く1細胞の「意思」を読み取る in vivo 網羅的動態・発現解析法の開発

§ 1. 研究実施体制

(1)「石井」グループ

- ① 研究代表者:石井 優 (大阪大学大学院生命機能研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・生組織における細胞集団のバイアスフリー動態解析法の開発
 - ・in vivo トランスクリプトーム解析法の開発

(2)「山田」グループ

- ① 主たる共同研究者:山田 亮 (京都大学医学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・数理データ解析・情報圧縮

(3)「松田」グループ

- ① 主たる共同研究者:松田 秀雄 (大阪大学情報科学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・イメージング画像初期解析
 - ・1 細胞からの微量 RNA のトランスクリプトーム解析法の確立
 - ・1 細胞遺伝子発現と細胞動態の関連解析インフォマティクスの確立

§ 2. 研究実施の概要

蛍光生体イメージングを駆使して、生きた組織・臓器内における種々の細胞の動態・機能を観察した後に、特徴的な動態・機能を示す細胞集団のみを *in vivo* で標識し、この細胞集団の遺伝子発現を検索して、細胞の「動き」を制御する分子メカニズムを解明する画期的な基盤技術を開発する本研究開発(全体で 5.5 年の研究期間)は、主に (1) 生組織における細胞集団のバイアスフリー網羅的動態解析法 と (2) 特徴ある動きを示す細胞集団の *in vivo* 標識・トランスクリプトーム解析法 の 2 つの要素技術について、実験系と解析系の両面から開発を進める計画としている。また本研究計画の後半では、これらの要素技術を一体化した、自動解析システムの開発を目指している。初年度である平成 27 年度(6ヶ月間)には、今後の研究遂行のための以下の基盤の開発を進めた。

(石井 G)

皮膚における「炎症時 vs 非炎症時」や骨髄内腫瘍の「抗がん剤治療前 vs 治療後」などの具体的な生物現象について、実際に生体多光子励起イメージングを行い、様々な予備的情報処理を行うことで、数理統計的処理に耐えうる生体イメージングデータの取得法について検討を行った。また、光刺激で特定の細胞内のトランスクリプトのみを後の解析用にタグ付けすることのできる TIVA プローブを生細胞に導入し、*intravital* でプローブを活性化させる予備検討を行い、活性化条件の最適化を行うとともに、活性化(TIVA タグ化)した RNA 回収法についても検討した。

(山田 G)

細胞の形と動きを 3 次元動画として記録し、形と動きの特徴を数理・統計学的に抽出することを目指して研究を進めている。平成 27 年度後半年間では、顕微鏡から得られる動画を、3次元の形と動きのコンピュータ解析処理に使用するための画像処理プログラムの設計と実装を進めるとともに、コンピュータ上で形と動きを、幾何学・トポロジー・微分積分学・外微分・確率論などの数学理論の側面から、本研究の背景理論の整理を進めた。また、特徴抽出を専門にする統計学と情報理論との両分野の専門研究者が共同し、3次元動画情報からの形と動きの特徴量抽出の理論的枠組みについて、それぞれの専門分野特有の解釈と、両分野の複合アプローチとしての解釈とについて議論を進めた。

(松田 G)

細胞集団の動態を表す特徴量を探索するため、膨大な量のイメージング画像に対して画像解析を効率的に適用する手法について開発を進めている。平成 27 年度後半は、二光子励起顕微鏡により得られる経時観察動画を解析することで、血管中で免疫細胞が動く速度をオプティカルフローにより求める手法を開発した。また、RNA-Seq 解析用ライブラリの調製技術について、既存の 1 細胞 RNA-Seq でのライブラリ調製法を調査し、本研究での適用可能性について検討を行った。細胞動態と関連したトランスクリプトーム解析については、1 細胞 RNA-Seq データを基に遺伝子発現の正規化や発現変動遺伝子探索の解析手法について開発を進めている。