

プログラム名： セレンディピティの計画的創出による新価値創造

PM名：合田 圭介

プロジェクト名：細胞解析技術開発

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平成 27 年度

研究開発課題名：

細胞内核酸標識開発

研究開発機関名：

京都大学 物質-細胞統合システム拠点

研究開発責任者

王 丹

I 当該年度における計画と成果

1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

本研究課題は1細胞内核酸標識開発を目標としている。そのため、当該年度は生きた細胞における核酸標識について、次の4つの研究ステップを通して標識および検出の高効率を求め、システムの統合的構築を行った。

ステップ1. 生きたユーグレナへのRNAプローブ導入

ステップ2. 導入後の細胞機能および細胞の遺伝子発現情報への影響評価

ステップ3. 時系列（タイムラップス）の効果的継続蛍光検出

ステップ4. 生きたユーグレナへの新規パラミロン認識プローブ導入

さらに、A, U, C, G以外の遺伝子情報ソースについての探索的な研究についても、同時に進めることを目標として、チームリーダーと技術補佐員2名を中心とした共同作業の実施体制で、研究計画を遂行した。

2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

2-1 進捗状況

研究目標1: 1細胞内核酸標識および検出の高効率を目指したシステムの統合的構築

本研究目標を具現化した実験目的として、ほとんど研究されていない生体内における1細胞のRNA動態と、既報研究の圧倒的多数を占めるセルラインでの核内RNA動態の違いについて検証実験を行った。その結果、生体内でのRNAの挙動はセルラインと大きく差があり、*in vivo* RNAイメージングの重要性が明らかであった。

研究目標2: 生きたユーグレナへの1細胞内核酸標識および観察を目指したシステムの統合的構築

研究ステップ1: 生きた1細胞のユーグレナへの蛍光物質導入。本年度はユーグレナを対象にプローブ導入を試みた。まずは、Alexa488やリコンビナントGFPなどの蛍光物質を導入するに成功した。

研究ステップ2: メッセンジャーRNAを認識する蛍光プローブを生きたままでユーグレナ個体へ導入し、認識の特異性を確認した。

研究ステップ3: 生きた1細胞ユーグレナへの核酸標識ECHOプローブの導入および導入後の経時変化の観察左プローブ導入後の蛍光の経時変化の観察およびプローブによる毒性の評価、ユーグレナの生態への影響の評価を行った。

研究ステップ4: PJ2 鶴沢チームリーダーらにより新規開発されたパラミロン認識プローブの生きた1細胞ユーグレナへの導入と観察を行い評価した。ユーグレナにおける重要な代謝物であるパラミロンを認識するプローブを生きたままのユーグレナへ1細胞レベルで導入したところ、顆粒状の蛍光の塊が数多く確認された。ECHOプローブによってラベルされたRNAの局在パターンや形状が大きく異なる。

2-2 成果

研究目標 1 については、生体内での RNA イメージング研究成果は国際誌 *Nuclei Acids Res*(Impact factor: 9.112)のオンライン版において 2015.6.19 日付にて公開された(Oomoto et al., *NAR*, 2015)。生体内での RNA 蛍光イメージングの先駆け的な研究成果である。京都大学からプレスリリースされ、日経産業新聞「RNA活動、可視化、京大、生きた細胞核内、マウスで。」(2015年6月26日13面)に取り上げられた。さらに、「エコノミスト」2015.08.25日付「サイエンス最前線」コラムに取り上げられた。

研究目標 2 については、その研究成果をまとめユーグレナ社との共同研究として投稿準備中である。

2-3 新たな課題など

パラミロンの蛍光標識については、新たな実験手法での確認や定量評価が必要とする。

3. アウトリーチ活動報告

一般市民向けのサイエンス討論を行った。

Sunday, August 23, 2015 / 14:00–15:30 “The Magical Workings of Our "Memory”

京都大学 iCeMS 本館 2 階で実施され、定員 20 名の一般市民を対象に茶話会の形で討論を行った。