生命現象と機能性物質
2022 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

辻 貴宏

名古屋大学 大学院医学系研究科
特別研究員

オプト・オミクスが明らかにする脳内微小環境と癌細胞の分子基盤

研究成果の概要

本研究は「転移性脳腫瘍と微小環境の相互作用」において、生体内で時空間的に観察された1細胞レベルでの細胞の形態変化・動態観察から、注目した細胞の網羅的発現データを抽出できる新しい方法論「オプト・オミクス」を核とした解析技術を構築することである。

本年度の成果の概要としては①蛍光可変蛋白の条件検討②蛍光変化標識のための顕微鏡のセットアップ③光標識モデルマウスの作製を行った。このマウスモデルは脳内ではマイクログリアが特異的に蛍光標識され、かつ特定の2光子波長をマイクログリアにあてることで、選択的にマイクログリアの蛍光波長を変えることができる。

- ① 蛍光可変タンパク質のうち、二光子顕微鏡で観察可能で、かつ2光子レーザーで低侵襲に蛍光可変が可能で、さらに蛍光変化後に単離のためのフローサイトメトリーで検出可能なものを特定した。
- ② 顕微鏡側の光学系の調整を行い、特定した蛍光可変蛋白の蛍光変化前、蛍光変化後の二光子励起が可能で、かつ特定の波長での光刺激標識可能なセットアップを行った。蛍光可変を行う特定波長のレーザーを照射してのち、すぐにレーザーを必要な波長に切り替えて蛍光変化が成功しているかをとらえるプログラムを組み、これにより準リアルタイムに蛍光可変が行えるセットアップとなった。
- ③ 既存のマイクログリア標識マウス Cx3cr1-EGFP のマウスモデルの構造を参考にして蛍光可変マイクログリアマウスを作製した。ジェノタイプリングの結果狙いの組み換えが起こり、現在これらを交配した F1 を作製中である。

以上のように、標識するための光学系の改良と、生物材料の準備を進めており、2023年度はこの作製した系をつかって、実際に癌細胞と物理的に相互作用したマイクログリアを標識単離しその発現プロファイルデータを得る予定である。