

2024 年度年次報告書

多細胞間での時空間的相互作用の理解を目指した定量的解析基盤の創出

2021 年度採択研究代表者

新宅 博文

京都大学 医生物学研究所
教授

RNA movie による多細胞運命分岐のダイナミクスアノテーション

主たる共同研究者:

口丸 高弘 (自治医科大学 分子病態治療研究センター 教授)

阪上一沢野 朝子 (理化学研究所 脳神経科学研究センター 研究員)

錦井 秀和 (筑波大学 医学医療系 准教授)

研究成果の概要

新宅グループは RNA movie 撮影技術の要素技術であるナノエレクトロポレーションによる非殺傷的 RNA 抽出の再現性向上を目指して、デバイスの組み上げ方法を改善し、複数回かつ 1 細胞解像度の RNA の転写を実現した。空間トランスクリプトームの実現へと進めている。次世代シーケンスを用いた方法も検討しており、シグナルとノイズの最適化および分子ピクセルの面積化を可能にした。RNA movie の proof of concept を示した Live-organismal transcriptomics に関する論文は査読コメントに対する対応を行ない、再度投稿した。また、ELASTomics を用いた解析を細胞競合の研究テーマを含む複数の共同研究に展開している。ロ丸グループは、ナノポア膜上での間葉系幹細胞の培養条件を検討するとともに、近赤外発光基質 AkaSuke の開発に関する論文を投稿し、査読コメントに対する改訂作業を進めている。沢野グループは、HT1080 細胞が特定のドキシソルビシン濃度環境下で生存延長した際に現れる「endoreplication」に着目している。マウス担癌実験において新規 *in vivo* multi-color 顕微内視鏡システムを報告した。本現象の前後で量的変化を示す RNA に着目し、蛍光タンパクを用いたゲノムラベルによりライブイメージングを実施し、細胞挙動の変化を追跡することで運命転換との関連性を解釈するための新たな実験系を構築した。錦井グループは、急性骨髄性白血病発症後の造血幹細胞(HSC)の炎症応答のシングルセル解析に関する論文を投稿し査読コメントの関する追加実験を行った。さらに、新規 HSC 増幅システムと低分子化合物ライブラリを用いた HSC の自己複製過程の Live-Imaging 解析を行い RNA movie への融合を検討した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Akifumi Shiomi, Taikopaul Kaneko, Kaori Nishikawa, Arata Tsuchida, Takashi Isoshima, Mayuko Sato, Kiminori Toyooka, Kentaro Doi, Hidekazu Nishikii, and Hirofumi Shintaku, “High-throughput mechanical phenotyping and transcriptomics of single cells”, *Nature Communications*, 15, 3812, 2024.
- 2) Arata Tsuchida, Taikopaul Kaneko, Kaori Nishikawa, Mayu Kawasaki, Ryuji Yokokawa, and Hirofumi Shintaku, “Opto-combinatorial indexing enables high-content transcriptomics by linking cell images and transcriptomes”, *Lab on a Chip*, 24, 8, 2024.
- 3) Toshiyuki Goto, Masayuki Nakano, Sally Danno, Chie Ueda, Asako Sakaue-Sawano, Atsushi Miyawaki, Anna Wrabel, Ichiro Nakahara, Takahito Nishikata, Akira Mizoguchi, Yasuhisa Tamura, Kei Mizuno, Yosky Kataoka, Kazuo Funabiki. “Microendoscopy for periodic intravital end-to-end tumor imaging of cancer cells”, *Cell Reports Methods*. 5, 101056, 2025.