

「統合1 細胞解析のための革新的技術基盤」  
平成28年度採択研究代表者

H28年度 実績報告書
----------------

二階堂 愛

理化学研究所情報基盤センター  
ユニットリーダー

臓器・組織内未知細胞の命運・機能の1細胞オミクス同時計測

## § 1. 研究実施体制

### (1)「二階堂」グループ

- ① 研究代表者: 二階堂 愛 (理化学研究所情報基盤センター、ユニットリーダー)
- ② 研究項目
  - ・1細胞の長期追跡とマルチオミクス計測法の開発

### (2)「上野」グループ

- ① 主たる共同研究者: 上野 博夫 (関西医科大学医学部、教授)
- ② 研究項目
  - ・超多色蛍光コーディング法開発

## § 2. 研究実施の概要

臓器・組織は、そこに含まれる幹細胞の増殖や死、分化により、細胞が置き換わり、機能が維持される。しかし、臓器によっては、幹細胞の発見や機能解析が進んでいない。そこで、本課題は、臓器・組織の細胞へ1細胞ずつ異なる目印をつけて、その命運を追跡しつつ、同時に細胞機能を計測する技術を開発する。これにより様々な臓器から未知幹細胞を同定し、その機能を知ることによって、健康な臓器を誰もが維持できる社会を目指す。

### (二階堂 G)

本年度は、幹細胞の1細胞レベルの長期追跡を可能とするため、(1)高出力1細胞RNA-seq法開発、(2)1細胞長期追跡法の開発を実施した。また、上野グループとの連携を確認するため、1細胞ソーティングを上野チームに技術移転し、採取した細胞を二階堂グループで1細胞RNA-seqを実施した(3)。

(1)については、液滴生成用のマイクロ流体デバイスを作製し、1細胞を採取する装置を作製した。これを用いて、ハイスループット型1細胞RNA-seqの流路を作製した。また、マルチウェルプレートを利用したハイスループット型1細胞RNA-seq法の開発を進めた。ES細胞とその分化細胞を用いて、それぞれの方法で、数千細胞の1細胞RNA-seqが達成できることを確認した。

(2)については、遺伝子組み換え技術を用いて、細胞を長期に標識する方法の開発を進めるため、ベクターの設計や作製を実施した。

(3)については、1細胞ソーティング法を二階堂Gから上野Gへ移転した。さらに上野Gで作製した複数の臓器由来の細胞を1細胞ソーティング後に、二階堂Gへ輸送する方法について検討した。さらに輸送後に1細胞RNA-seqを実施し、連携可能であることを示した。

### (上野 G)

本年度は、臓器・組織の細胞へ1細胞ずつ異なる目印をつけて、その命運を追跡するための超多色蛍光コーディングマウスの開発を実施した。使用する蛍光タンパク質の候補を、組織イメージングおよびセルソーティングへの適用可能性を視野に入れて選定した。また、目印の多様性を担保するための方法を検討した。多様性を作り出すための配列を、先行研究の検索を通して、選定した。これらの蛍光タンパク質cDNAおよび多様性を作り出す配列を含むplasmidをそれぞれ入手し、細胞を用いたin vitroでの予備検討のためのplasmid構築に着手した。

二階堂Gとの連携を確認するために、マウス臓器から取り出した幹細胞からオルガノイドを作製し、1細胞ソーティングを実施した。これを二階堂Gへ凍結輸送できることを確認した。