

「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

H29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 (京都大学大学院医学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・数理データ解析
 - ・情報圧縮

(3) 「山田」グループ

- ① 主たる共同研究者: 三村 和史 (広島市立大学大学院情報科学研究科 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 (大阪大学大学院情報科学研究科 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

石井チームでは、免疫細胞の生体イメージングを基盤とし、細胞動態とその動態を制御する分子基盤を解明することを目指しています。そのために、2つの大きな課題(1)イメージング研究と細胞動態解析を統合する技術、(2)イメージング研究と遺伝子発現解析を統合する技術の開発に取り組んでいます。これら2つの技術を合わせることで、イメージングデータを基に細胞動態を特徴付ける分子基盤を同定することができると考えています。

これからのイメージング研究に必要な技術：
イメージングデータを基に細胞動態とそれを制御する遺伝子情報とを
対応させる

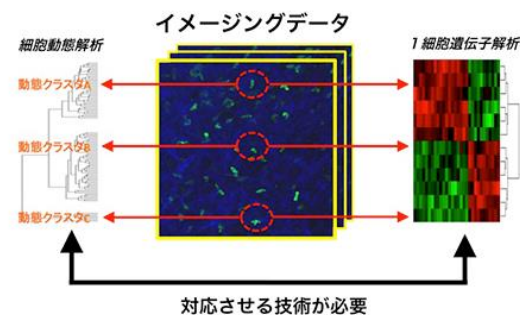


図) これからのイメージング研究に必要な

イメージング研究と細胞動態解析を統合する技術として、数理統計解析により細胞の形や動きの経時変化、すなわち細胞動態を網羅的に解析する理論を構築しています。細胞動態を数値として表現し分類することにより、例えば同じ炎症反応である感染性炎症とアレルギー性炎症の間においても動態の差異を比較し、議論することが可能になります。この「動態」を多数の成分の集合としてとらえる理論の確立によって『動きとはなにか？形とは何か？形が変わるとはどういう事なのか？』という大きな課題を明らかにすることも目指しています。

平成29年度は画像解析法の検討を行い、細胞領域を識別する方法(セグメンテーション)にグラフカット法を、細胞の動きをリアルタイムで検出する方法(トラッキング)に粒子フィルタ法を採用することを決定しました。また、形の解析、動きの解析の理論も完成し、これらの理論を統合し細胞動態解析に向けたソフトウェア化の検討を行いました。あわせて、リアルタイム動態解析に向けた環境整備を行いました。リアルタイム動態解析は本プロジェクトにおいて鍵となる技術という位置付けであり、リアルタイム動態解析の実現に向け、画像解析サーバを設置し、画像解析サーバとニコン社製の二光子励起顕微鏡システムとを連携させる通信プログラムを作成しました。

イメージング研究と遺伝子発現解析を統合する技術として、光(UV)照射を用いイメージング後の任意の細胞、または遺伝子発現情報を標識し回収する方法を開発しています。細胞を標識する方法としては、PA-GFPやKikGRなどの光感受性の蛍光タンパク質を用い、遺伝子発現情報を標識する方法としては、TIVA(Transcriptome In Vivo Analysis) tagを用いて、標識した細胞や遺伝子発現情報を効率的に回収し解析する方法の確立を目指しています。

平成29年度はKikGRを用いた実験系の検討を開始しました。また、TIVA tagの日本国内における合成体制を確立し、国内合成したTIVA tagの性能を確認するとともに、TIVA tagを免疫細胞のイメージングに導入する条件検討を行いました。さらに、1細胞遺伝子発現差解析の標準的な方法は未だ確立されていないことから、報告のある複数の1細胞遺伝子発現差解析の方法に関して比較、検証を行い最適な方法の検討を行いました。