

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
2019 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書

今吉 格

京都大学 大学院生命科学研究科
教授

力学場と生化学場の相互作用の計測・操作と予測

§ 1. 研究成果の概要

本年度は、遺伝子発現の光操作システムの改良を行い、低分子化合物や青色光を用いて、これまでよりも信頼性高く、哺乳類細胞の遺伝子発現を人工的に操作できるツールを樹立した。このツールを使うことで、神経幹細胞や神経前駆細胞において、様々な遺伝子発現動態を人工的に再構成し、その機能的意義の検証が可能になった。現在、これらの光操作ツールを用いて、神経幹細胞における転写因子の動態変化が、どのような遺伝子発現の変化を介して細胞表現型の表出につながるかを、次世代シーケンサーを用いて解析している。また、開発した遺伝子発現の光操作システムを、脳オルガノイドやモデルマウス脳など、3次元立体組織中に存在する神経幹／前駆細胞に導入し、光操作の効果の検証を行なっている。

また、脳オルガノイドやモデルマウス脳において、神経幹細胞の細胞増殖・細胞分化や、その背景にある遺伝子発現変化や細胞シグナル活性状態の変化を解析するために、多光子顕微鏡技術の開発を行った。また、開発した光操作ツールを、3次元立体組織中の狙った細胞や領域で選択的に操作するために、多光子レーザーのパターン照射技術の開発を行った。

加えて、3次元立体組織中における細胞内外の状態のイメージング解析から得られたデータから、数理モデリングを行うための手法開発を行った。現在、数理モデル解析から得られた現象を、実験に反映して、その機能的意義を検証可能にする実験系の構築を行なっている。

§ 2. 研究実施体制

(1) 今吉グループ

- ① 研究代表者: 今吉 格 (京都大学 大学院生命科学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・多細胞解析に必要な先鋭的光学システムの開発・製造
 - ・多細胞システムを構成する、生化学的・細胞生物学的・力学的パラメーターの定量的計測
 - ・多細胞システムを構成する、生化学的・細胞生物学的・力学的パラメーターの光操作法の開発と検証
 - ・神経組織の発生過程を制御する、多細胞システムの作動原理の解明

(2) 奥田グループ

- ① 主たる共同研究者: 奥田 覚 (金沢大学 新学術創生研究機構 ナノ生命科学研究所 准教授)
- ② 研究項目
 - ・多細胞システムにおける分子・細胞・組織動態の連成シミュレーション手法の開発
 - 生化学場と多細胞の三次元力学動態を連成した新規三次元バーテックスモデルを開発
 - 分子集団から多細胞までのマルチスケール動態を記述する新規数理モデルの開発
 - ・多細胞システムにおける生化学・細胞生物学・力学パラメーターを定量化するための数理基盤
 - ・神経組織の発生過程を制御する、多細胞システムの作動原理の予測と理解
 - 神経性網膜組織と大脳皮質原基の形態形成
 - 網膜と大脳皮質のレイヤー／カラム構造の形成

(3) 磯部グループ

- ① 主たる共同研究者: 磯部 圭佑 (理化学研究所 光量子工学研究センター 上級研究員)
- ② 研究項目
 - ・高精細深部イメージング技術
 - ・広視野深部イメージング技術
 - ・多点同時走査によるパターン照明技術
 - ・パターン同時照射技術
 - ・深部マイクロ・ナノサージェリー技術
 - ・フェムト秒レーザー誘起衝撃波を用いた応力場制御技術

(4) 浜松ホトニクスグループ

- ① 主たる共同研究者: 久野 耕司 (浜松ホトニクス株式会社 電子管事業部第6製造部 部長 主幹)
- ② 研究項目

- ・波面補償装置
- ・広視野レンズ
- ・広受光面積光電子増倍管
- ・多点集光装置

【代表的な原著論文情報】

- 1) Inazawa, K., *Isobe, K., Ishikawa, T., Namiki, K., Miyawaki, S., Kannari, F. and Midorikawa, K. (2021) Enhancement of optical sectioning capability of temporal focusing microscopy by using time-multiplexed multi-line focusing. *Appl. Phys. Express*. 14, 082008. doi.org/10.35848/1882-0786/ac1387

- 2) Ishikawa T., *Isobe K., Inazawa K., Michikawa T., Namiki K., Miyawaki A., Kannari F. and Midorikawa K. (2022) Fringe- and speckle-free holographic patterned illumination using time-multiplexed temporal focusing. *Appl. Phys. Express* 15, 042005. doi.org/10.35848/1882-0786/ac5dec

- 3) Kaise, T., Fukui, M., Sueda, R., Piao W., Yamada, M., Kobayashi, T., Imayoshi, I. and *Kageyama, R. (2022) Functional rejuvenation of aged neural stem cells by Plagl2 and anti-Dyrk1a activity. *Genes Dev.* 36(1-2):23. doi: 10.1101/gad.349000.121.

- 4) Harada, Y., Yamada, M., Imayoshi, I., Kageyama, R., Suzuki, Y., Kuniya, T., Furutachi, S., Kawaguchi, D. and *Gotoh Y. (2021) Cell cycle arrest determines adult neural stem cell ontogeny by an embryonic Notch-nonoscillatory Hey1 module. *Nat Commun.* 12(1):6562. doi: 10.1038/s41467-021-26605-0.

- 5) *Okuda, S., & *Sato, K. Polarized interfacial tension induces collective migration of cells, as a cluster, in a three-dimensional tissue. *Biophysical journal* (in press).