

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

2022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

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)

奥田 寛 (金沢大学 ナノ生命科学研究所 准教授)

久野 耕司 (浜松ホトニクス(株) 電子管事業部 部長主幹)

研究成果の概要

遺伝子発現の光操作システムの改良を継続し、低分子化合物や青色光を用いて、これまでよりもさらに信頼性高く、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。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、次世代シークエンサーを用いて解析している。一次解析は終了し、データベースや他の解析との統合解析を行っている。また、開発した遺伝子発現の光操作システムや、細胞内メッセンジャー分子に対する蛍光プローブを、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、*in vivo* モデルにおける検証を行なっている。

また、これまで開発して来た、多光子顕微鏡技術の評価を行った。細胞スフェロイドやモデルマウス脳において、深部イメージングや多光子レーザーのパターン照射技術が計画していたように実施できていることが確認できつつあるが、定量データの蓄積を進めるとともに、開発した多光子顕微鏡技術の優位性を明確にし、生物学的研究への応用を進める。

加えて、マウス ES 細胞から神経管スフェロイドが形成される過程のイメージングを実施し、その力学過程を解析するための数値シミュレーション技術を開発した。これにより、細胞膜の変形や流動、分裂、接着を含む、複雑な多細胞の三次元動態を詳細に予測することが可能になった。現在、開発した数値シミュレーション手法を用いて、神経管スフェロイドの形成機構を解析を進め、その結果を実験へフィードバックし、上皮管腔構造の形成機構の解明に取り組んでいる。

【代表的な原著論文情報】

1. *Satoru Okuda, Tetsuya Hiraiwa, "Long-term adherent cell dynamics emerging from energetic and frictional interactions at the interface," *Physical Review E* 107 (3): 034406 (2023) DOI: 10.1103/PhysRevE.107.034406
2. *Satoru Okuda, *Katsuhiko Sato, "Polarized interfacial tension induces collective migration of cells, as a cluster, in a 3D tissue," *Biophysical Journal* 121 (10): 1856-1867 (2022) DOI: 10.1016/j.bpj.2022.04.018
3. T. Ishikawa, K. *Isobe, K. Inazawa, T. Michikawa, K. Namiki, A. Miyawaki, F. Kannari and K. Midorikawa, "Fringe- and speckle-free holographic patterned illumination using time-multiplexed temporal focusing," *Appl. Phys. Express* **15**, 042005 (2022).
4. *Nagasaki, S.C., Fukuda, T.D., Yamada, M., Suzuki, Y.I., Kakutani, R., Guy, A.T. and *Imayoshi, I. (2023) Enhancement of Vivid-based Photo-Activatable Gal4 Transcription Factor in Mammalian Cells. *Cell Struct Funct.* 48: 31–47. doi: 10.1247/csf.22074.. doi: 10.1247/csf.22074.
5. *Tatsushi Yokoyama, Satoshi Manita, Hiroyuki Uwamori, Mio Tajiri, Itaru Imayoshi, Sho

Yagishita, Masanori Murayama, Kazuo Kitamura, *Masayuki Sakamoto (2023) A multicolor suite for deciphering population coding in calcium and cAMP in vivo. bioRxiv 2023 年 1 月 8 日 (プレプリント) doi: <https://doi.org/10.1101/2023.01.06.522686>