

2024 年度年次報告書

時空間マルチスケール計測に基づく生物の復元あるいは多様化を実現する機構の解明

2024 年度採択研究代表者

大瀧 夏子

千葉大学 大学院医学研究院

特任助教

慢性疾患における細胞間相互作用カタログ・多様化経路マップの作成

研究成果の概要

本研究では、慢性疾患の進行に関与する多岐にわたる細胞間相互作用を、単一細胞レベルで網羅的に解析するための技術基盤を構築する。具体的には、生体から採取した細胞を *ex vivo* 微小ユニット内でペアリングし、大量並列共培養によって細胞間相互作用を誘導した後、各細胞のトランスクリプトーム情報およびペアリング情報を取得する手法の確立を進めた。

2024 年度は、この解析を可能にする DNA バーコードを用いた細胞ペア識別システムの開発を行った。微小ゲル粒子(ビーズ)に DNA バーコードを組み込み、光照射によってバーコード(ペアリング情報)を細胞表面に付与する手法を確立した。まず、バーコードのスケラビリティを検討し、split & pool 法を用いて約 44 万通りの識別パターンを持つバーコードビーズを作製した。さらに、バーコードの読み出し精度、細胞表面への付与効率、非特異的付着の抑制について評価した。ヒトおよびマウス細胞を用いた実験の結果、バーコードはヒト細胞に選択的に付与され、偽陽性率は 1%未満であり、高い特異性が確認された。

また、液滴、ハイドロゲルカプセル、マイクロウェルといった異なる微小ユニットを用いた細胞培養法を比較し、新たに開発した中空型アガロースカプセルを用いることで、従来法と比べて細胞生存率を約 10%から約 35%まで大幅に向上させた。この技術により、培養中の細胞ストレスを軽減し、安定した細胞状態を維持したまま解析を行うことが可能となった。

2025 年度は、開発したバーコードビーズ技術と改良した培養システムを組み合わせ、生体由来細胞を用いた解析パイプラインの構築および概念実証実験(Proof-of-Concept)を実施する予定である。これらが完了次第、疾患モデルを用いて免疫細胞や線維芽細胞など多種の細胞間の相互作用を定量的に解析し、疾患の発症進展に関わる細胞ネットワークの解明を目指す。