

多細胞システムにおける細胞間相互作用とそのダイナミクス
2019 年度採択研究者

2020 年度 年次報告書

小口 祐伴

理化学研究所 開拓研究本部／科学技術振興機構
研究員／さがけ研究者

細胞間相互作用の理解に資するゲノムワイド1分子遺伝子空間分布解析

§ 1. 研究成果の概要

本研究は網羅性と1分子単位の空間精度を兼ね備える遺伝子空間分布解析手法を開発し、組織、器官といった多様な細胞で構成される場において、遺伝子の空間分布を高解像度に可視化することを目指す。これまで遺伝子の情報は単なるスカラー量であったが、1分子単位の位置情報も有するベクトル量とすることで、より詳細に細胞間の差異を抽出し、相互作用メカニズムの理解に資することが期待される。この実現に向けて、本研究の実施者が独自に開発を進めてきた非増幅シーケンサーのシーケンス原理(single-molecule sequence-by-synthesis)を応用することを計画している。昨年度までに非増幅シーケンス基板上にてmRNAを二本鎖cDNA化し、基板上に第一鎖を残したままに第二鎖を回収する方法を確立した。ただしこれらの検討は、合成RNA溶液を用いて実施し、mRNA分子の位置情報を考慮していなかった。

本年度は、mRNA分子(より正確にはcDNAに変換後の分子)を、細胞内での位置情報を保持したままにシーケンス基板に移動させ(この操作を転写と呼ぶ)、配列を解析する方法の確立を試みた。細胞に由来する夾雑物が、DNA分子転写の後段に実施するシーケンス反応に影響することも懸念されたため、まず擬細胞サンプルを用いて検討を進めた。擬細胞サンプルは、細胞程度の大きさの磁気ビーズにDNA分子を結合することで作成した。この擬細胞サンプルを非増幅シーケンスフローセルに導入し、DNA分子をシーケンス基板表面へ転写し、さらには、これらの配列に従うシーケンス反応を確認した。また、この方法が細胞にも適用可能であることを、K562細胞を用いて確認した。これらの成果は、本研究の基盤技術である、非増幅シーケンサーを活用したDNAバーコード分子の空間的な識別手法と併せ、論文として発表に至った¹⁾。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Oguchi, Y., Shintaku, H. & Uemura, S. Development of a sequencing system for spatial decoding of DNA barcode molecules at single-molecule resolution. *Commun. Biol.* **3**, 788 (2020).