

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

2021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／さきがけ研究者

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。これまで、サンプル調製の方式として大きく分けて2つのタイプを計画し、検討を進めてきた。1つ目はサンプルの調製工程をシーケンスフローセル内で実施する方式で、フローセル内に細胞を導入後、そこで mRNA の捕捉と二本鎖 cDNA 化する方法。もう一つは、細胞中の mRNA の cDNA 化までをシーケンスフローセル外において実施し、その後、フローセル内に導入し、二本鎖化 cDNA を biotin-avidin を相互作用によって、シーケンスフローセルに捕捉する方法である。

本年度は、前者の方法に関し、mRNA の検出感度の向上に関する検討を実施、遺伝子検出感度を高める因子の一つの特定に至った。後者の方法については、前年度に引き続き疑似細胞(DNA を表面に結合した磁気ビーズ)を活用した検討から着手した。この疑似細胞をシーケンスフローセルに捕捉し、1st strand cDNA のフローセルへの転写、及び、フローセルから解離した疑似細胞を回収できること確認した。回収個数、および 2nd strand cDNA を定量した。この疑似細胞で確立した系を培養細胞に適用した。