

2023 年度年次報告書
生命現象と機能性物質
2022 年度採択研究代表者

辻 貴宏

名古屋大学 大学院医学系研究科
特別研究員

オプト・オミクスが明らかにする脳内微小環境と癌細胞の分子基盤

研究成果の概要

本研究は「転移性脳腫瘍と微小環境の相互作用」において、生体内で時空間的に観察された1細胞レベルでの細胞の形態変化・動態観察から、注目した細胞の網羅的発現データを抽出できる新しい方法論「オプト・オミクス」を核とした解析技術を構築することである。

前年度までに、①蛍光可変蛋白や②顕微鏡のセットアップを行い、③光標識マウスの作製を行った。

本年度はこの成果を利用し、④開発した光標識モデルマウスの系統化、⑤光標識マウスを宿主とした転移性脳腫瘍モデルにおいて腫瘍細胞と相互作用した宿主細胞を標識、⑥標識された細胞の単離と解析を行った。

④ 前年度に CRISPR-Cas9 により遺伝子組み換えで作製した光標識マウスを WT と交配し、第三世代を得て、安定して繁殖が可能となった。標識蛍光可変蛋白を、目的の細胞に特異的に発現することを確認した。

⑤ 光標識マウスを宿主として転移性脳腫瘍モデルを作製した。光標識マウスの解析に適した腫瘍細胞系統もあらたに構築した。このモデルにおいて、癌細胞に応答した特定の細胞を光標識することに成功した。ホログラム顕微鏡の現在のスポット大の解像度は細胞の直径よりずっと小さく、1細胞以上の解像度で行うことができた。隣接する細胞であっても、目的の細胞だけを標識することができる。

⑥ 標識した細胞はフローサイトメトリーで検出可能であることを確認し、単離に成功した。

さらに、単離された細胞は cDNA ライブラリ構築ができ、生体内イメージングで腫瘍と相互作用した細胞集団の解析が進行中であり、シーケンシングを行っている。以上のように、本年度は癌細胞と空間的に相互作用したグリア細胞を標識単離できるシステムを構築した。次年度はこの系を用い、アルツハイマー病や慢性炎症疾患など種々の疾患におけるグリア細胞トランスクリプトームの変化の解析へと展開していく。