

2024 年度
創発的研究支援事業 年次報告書【公開版】

研究担当者	山本拓也
研究機関名	京都大学
所属部署名	iPS 細胞研究所
役職名	教授
研究課題名	細胞運命を制御する空間トランスクリプトミクス
研究実施期間	2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日

研究成果の概要

本研究は、細胞内 RNA 局在制御機構の全体像を解明し、それらの制御機構が細胞運命変換過程でどのような役割を担うのかを明らかにすることを目的とする。本年度は、3 次元サンプルに対応した空間トランスクリプトーム解析技術の改良を進め、E8.75 ステージのマウス whole-mount 胚（縦約 2 mm、横約 0.5 mm、厚さ 0.3–0.4 mm）において、約 200 遺伝子の同時観察を実現した。さらに予備的ではあるが、同技術を成体肝臓にも適用可能であることを確認した。加えて、scRNA-seq データとの統合解析により、3 次元空間上での細胞種分布を可視化するための 3D マップ構築用解析パイプラインを開発した。また、空間トランスクリプトーム技術と CRISPR/Cas9 技術を統合することで、CRISPR スクリーニングと細胞の形態学的特徴を結びつける新規解析手法を開発し、多能性幹細胞における適用可能性を検証した。まず、HybISS（Hybridized Hybridization-based In Situ Sequencing）を活用することによって、特定の gRNA を空間情報とともに検出可能かどうかを含め、実験系の妥当性を確認した。次に、gRNA の網羅的検出を目的とした技術開発を行った。ヒト iPS 細胞を用いた CRISPR スクリーニング系の構築に向け、ベクターおよび空間解析に適した gRNA 配列の最適化を行い、レンチウイルスを用いた gRNA ライブラリの作製とスクリーニングを実施した。その結果、本システムが免疫染色や DNA FISH との併用に適しており、iPS 細胞で複数遺伝子の細胞周期における機能解析が可能であることを示した。加えて、より生体組織に近い三次元構造である胚様体への本技術の応用も試み、有効性の検証を行った。