

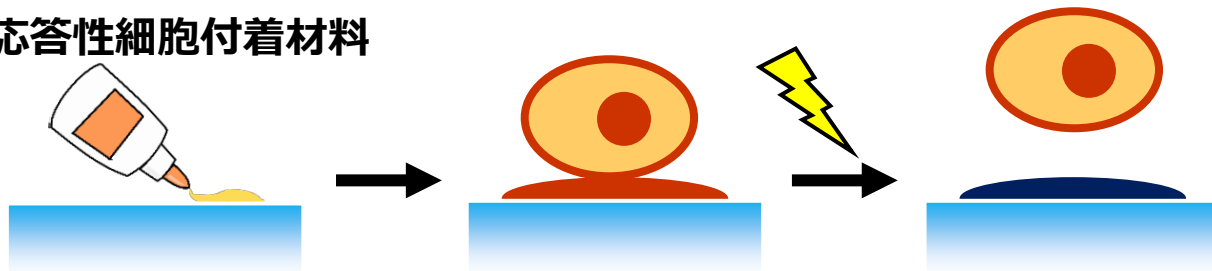
2 細胞解析技術のご紹介

大阪大学産業科学研究所
分子システム創成化学研究分野
教授 山口哲志

光応答性細胞付着表面

任意の細胞の基板への付着と脱離を瞬時に操作できる独自の光応答性の細胞付着表面を開発してきた。

光応答性細胞付着材料



Angew. Chem. Int. Ed., **2012** ; *Macromol. Biosci.*, **2014** ; *Lab Chip*, **2017** ; *Biomater. Sci.*, **2019** ; *ACS Appl. Bio Mater.*, **2020** ; *Micromachines.*, **2020**

第1世代

光分解性細胞付着表面

“光でくっつかない、とれる”

特許登録7205910号
特願2016-061233

第2世代

光活性化細胞付着表面

“光でくっつく”

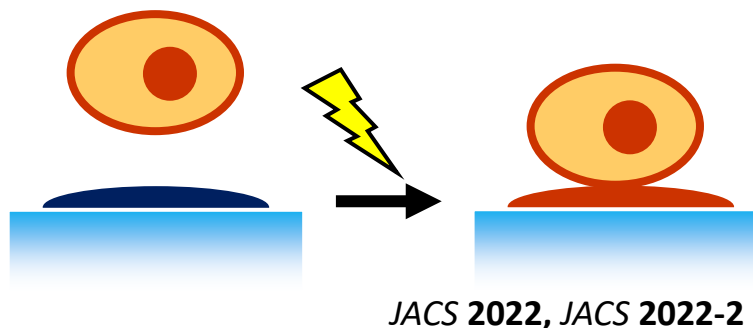
特許登録6607746号
特願2021-190522
特願2022-76539

第3世代

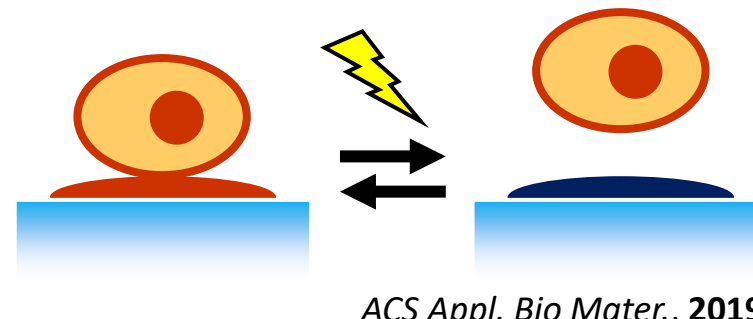
光スイッチ型細胞付着表面

“光でくっついたり
とれたり”

特許登録7236126号
特願2019-222051



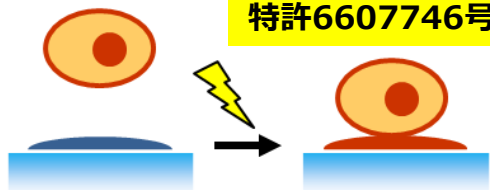
JACS **2022**, *JACS* **2022-2**



ACS Appl. Bio Mater., **2019**

光活性化細胞付着表面

特許6607746号

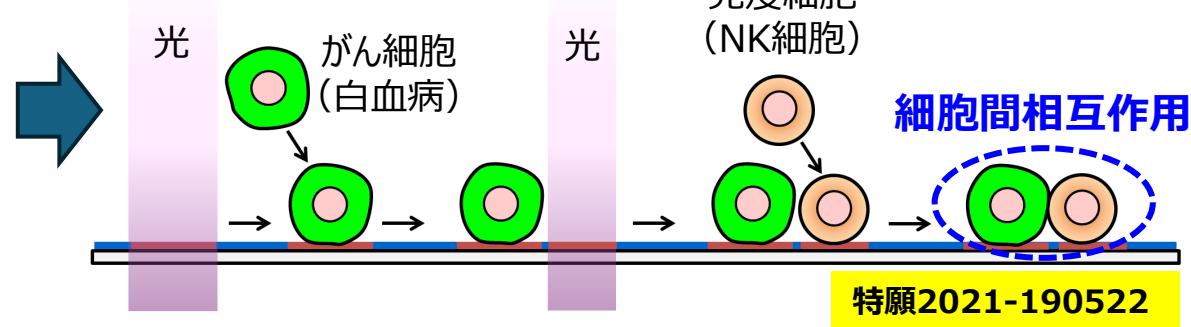


任意の異種細胞を1細胞レベルの精度で光配置

4色の細胞を配置

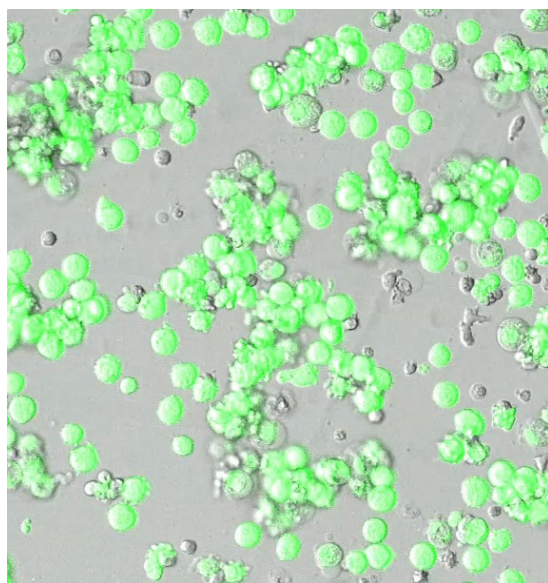


2細胞解析技術



従来の相互作用観察

(細胞集団を混ぜて平均で評価)



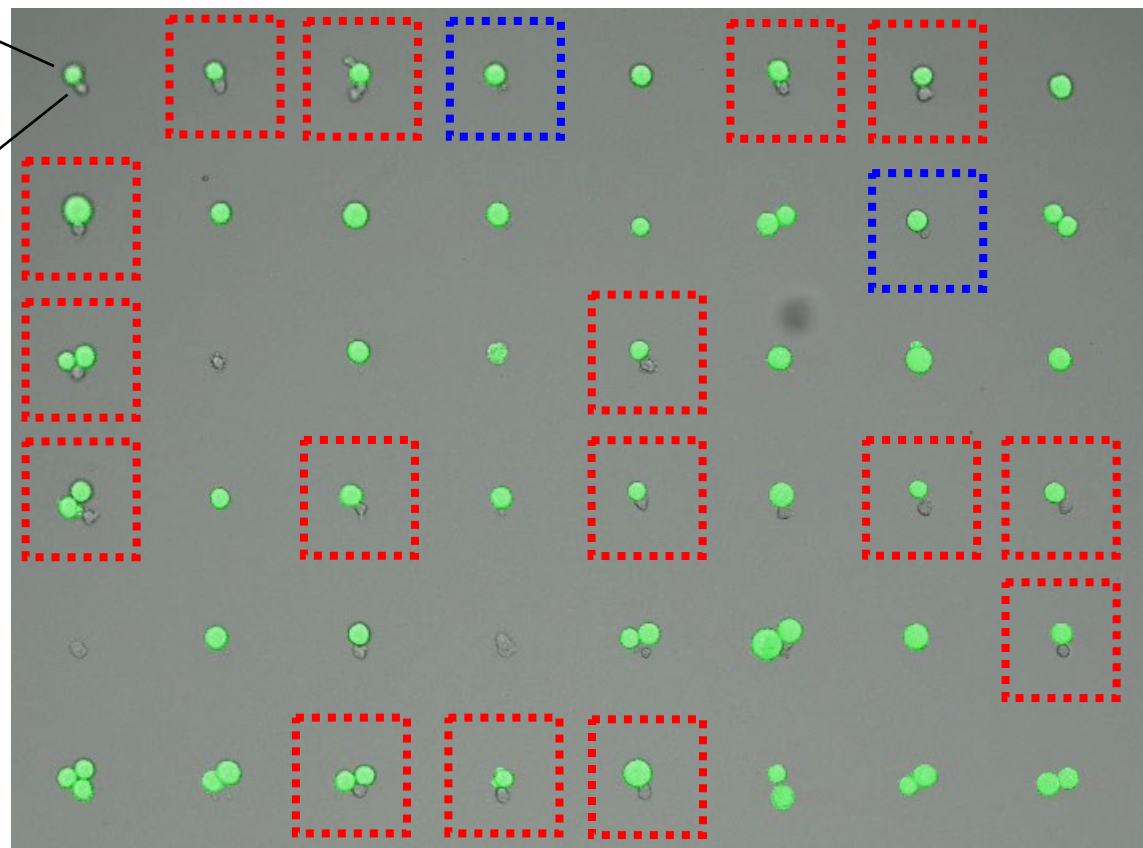
600倍速再生

ヒト白血病細胞株

K562細胞

Calcein染色

NK細胞



個々の相互作用の不均一性を可視化

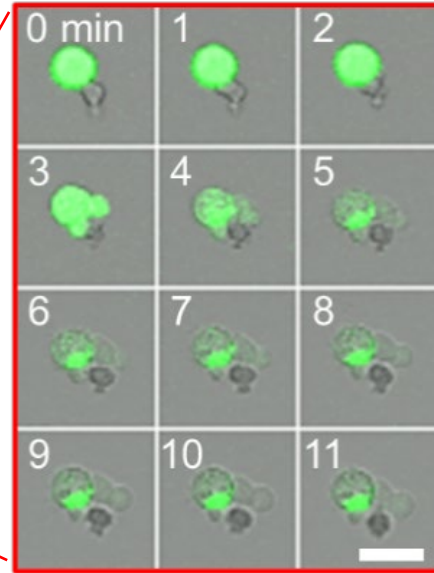
60倍速再生

個々の細胞の振る舞いや特徴は不明

⇒ 薬の効果も細胞レベルでは分からない

基板上に半固定し解析を行うことで
個々の細胞同士にまで解像度を高めた相互作用の観察と
時間軸をもった画像データ取得が可能となった
画像解析と相性のよいAI解析を組み合わせることで
死ぬ運命の細胞を事前に寸止めで解析することなども可能

2細胞解析技術



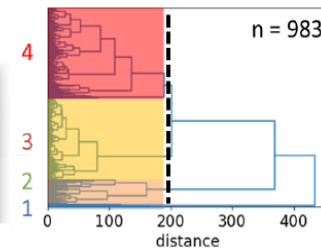
①画像データ



②標的とする細胞
表現型を検出

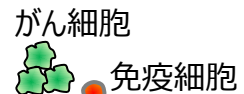


自動分類



大量データ処理・解析システム

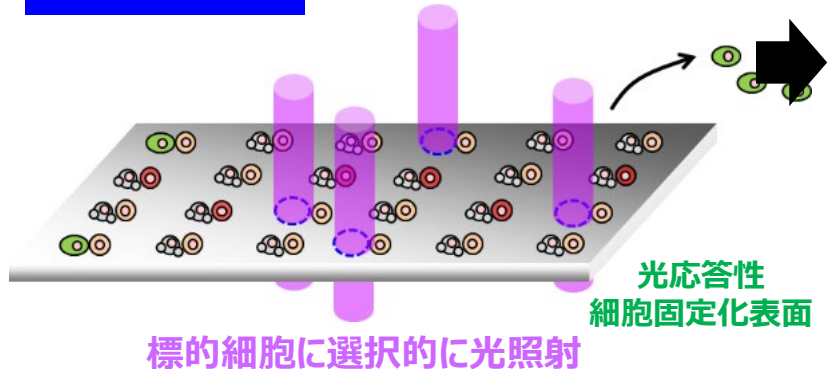
③標的細胞 位置情報



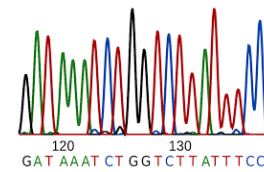
様々な条件下（薬剤等
共存下）で解析

高速光回収

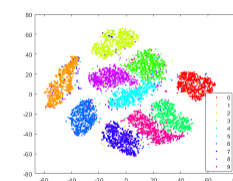
光回収技術により細胞傷害性に応じて
免疫細胞やがん細胞をそれぞれ分取



受容体配列解析



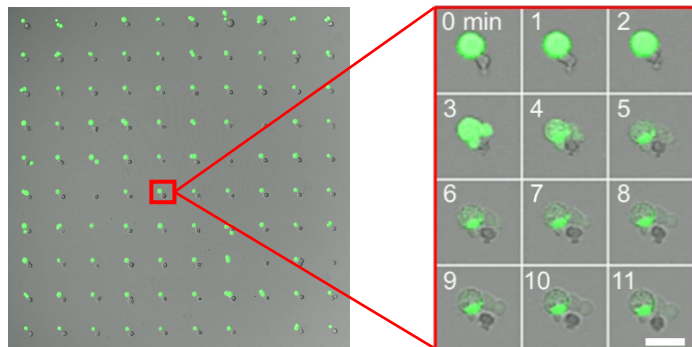
scRNA-seq



機械学習による自動分類

細胞死誘導の有無だけでなく、臨床上重要な細胞死誘導メカニズムも自動分類可能

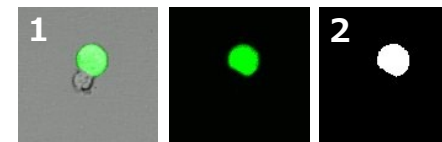
膨大な数の時系列画像データ



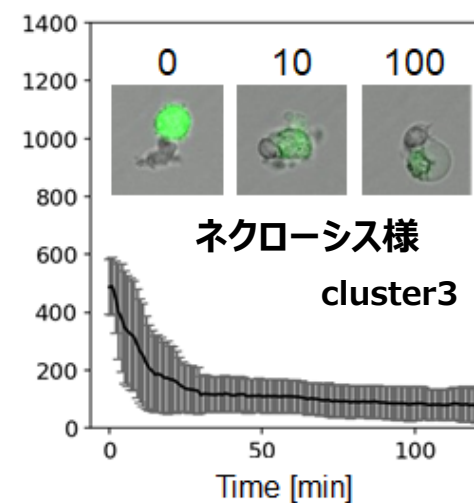
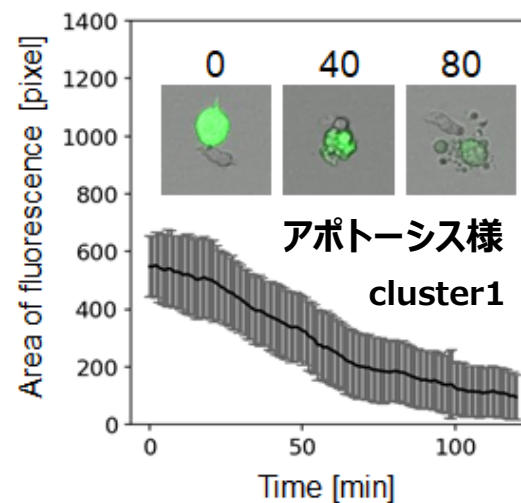
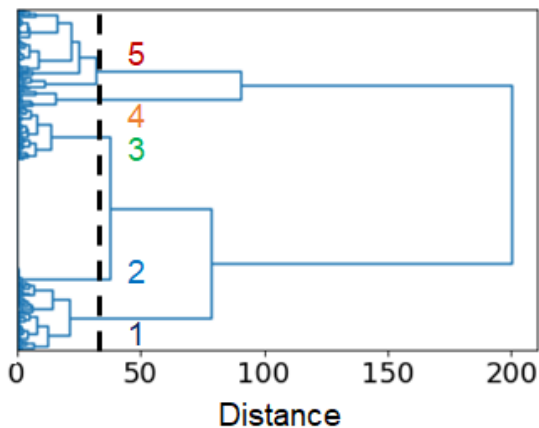
簡易自動解析システム

1. 細胞ペアの経時画像の切り出し
2. 蛍光画像の二値化 (**Image J**)
3. 輝度が閾値以上のピクセルのカウント (**Python**)
4. 蛍光の時間変化データを階層的クラスタリング解析
(**Scipy.cluster.hierarchy**モジュール, **Python**)

教師無し機械学習 (ワード法)



	Time [min]			
	0	1	2	...
Cell 1	0	0	0	
Cell 2	409	430	421	...
Cell 3	339	348	385	
...				



Yamahira et al., J. Am. Chem. Soc. 2022, 44, 13154

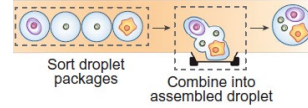
細胞傷害性に応じて自動分類され、その内の二つが異なる細胞死メカニズム

技術シーズの優位性

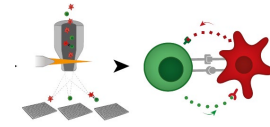
特願2021-190522



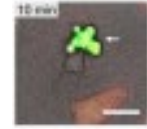
PNAS, 113, E3599 (2016)



PNAS, 113, e2110867119 (2022)



Nat. Biotechnol. 38, 629 (2020)



J. Biol. Chem. 293, 16348 (2018)

	2細胞解析技術	マイクロウェル法	ドロップレット法	フローサイトメトリ法（2細胞を分離）	従来法（相互作用を探す）
ハイスループット性	○ (数万～数10万ペア)	○ (一度に数万ペア)	◎ (一度に数100万ペア)	◎ (一度に数千万ペア)	× (一度に1～数ペア)
時系列画像の取得 (リアルタイム観察可能)	○	△ (細孔に押し込められた状態で)	×	×	○
形態的特徴の観察	◎ (制限がない)	×	○ (浮遊細胞のみ)	×	◎ (制限がない)
接着細胞（固形がん） の接着伸展状態での観察	○	×	×	×	○
1細胞のピックアップと の接続性	◎ (光溶解性ゲルの上でどんな細胞も)	△ (浮遊細胞のみ可能)	×	×	△ (浮遊細胞のみ、難しいが)
高速の単一細胞ソーティングとの接続性	◎ (光溶解性ゲルの上でどんな細胞も)	×	×	×	×

この技術を御社の探索研究や評価に利用してみませんか？

多種多様な細胞群による相互作用をプレート上に並べて観察することで

- ・細胞レベルの高解像度で2細胞間の相互作用を解析可能
- ・経時的にデータ蓄積を行うことで時間軸での解析が可能
- ・興味のある細胞にレーザーを照射することで細胞の回収解析が可能
- ・画像解析にAIを適用することで細胞の自動分類や反応の初期段階での細胞の回収解析が可能



- ・ T細胞→Th1細胞→Th1-Treg細胞というように
 どんどん細分化され機能が明らかになっていく新規免疫細胞の発見、研究
- ・ GFPなどとの融合蛋白を発現する細胞を使った細胞内シグナル伝達を指標とした探索も可能
- ・ 時間軸で解析可能なので、細胞の遊走能なども評価できます
- ・ 周囲に薬剤を流すことで、細胞間相互作用への薬剤の影響評価も可能です。