

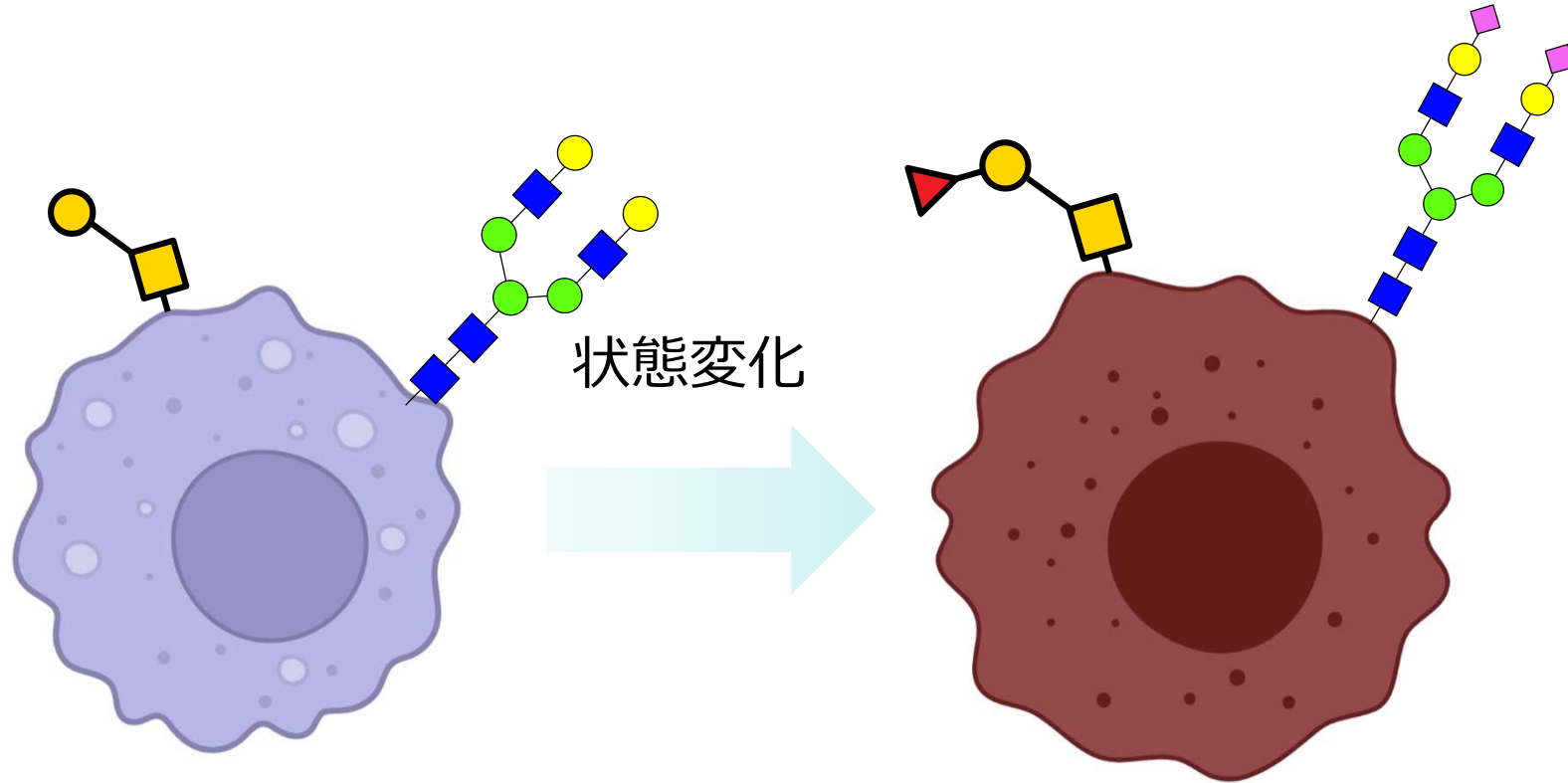
1 細胞ごとに発現する糖鎖とRNAを 同時プロファイリングする技術

産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門
研究グループ長 舘野 浩章

2022年2月18日

糖鎖は「細胞の顔」

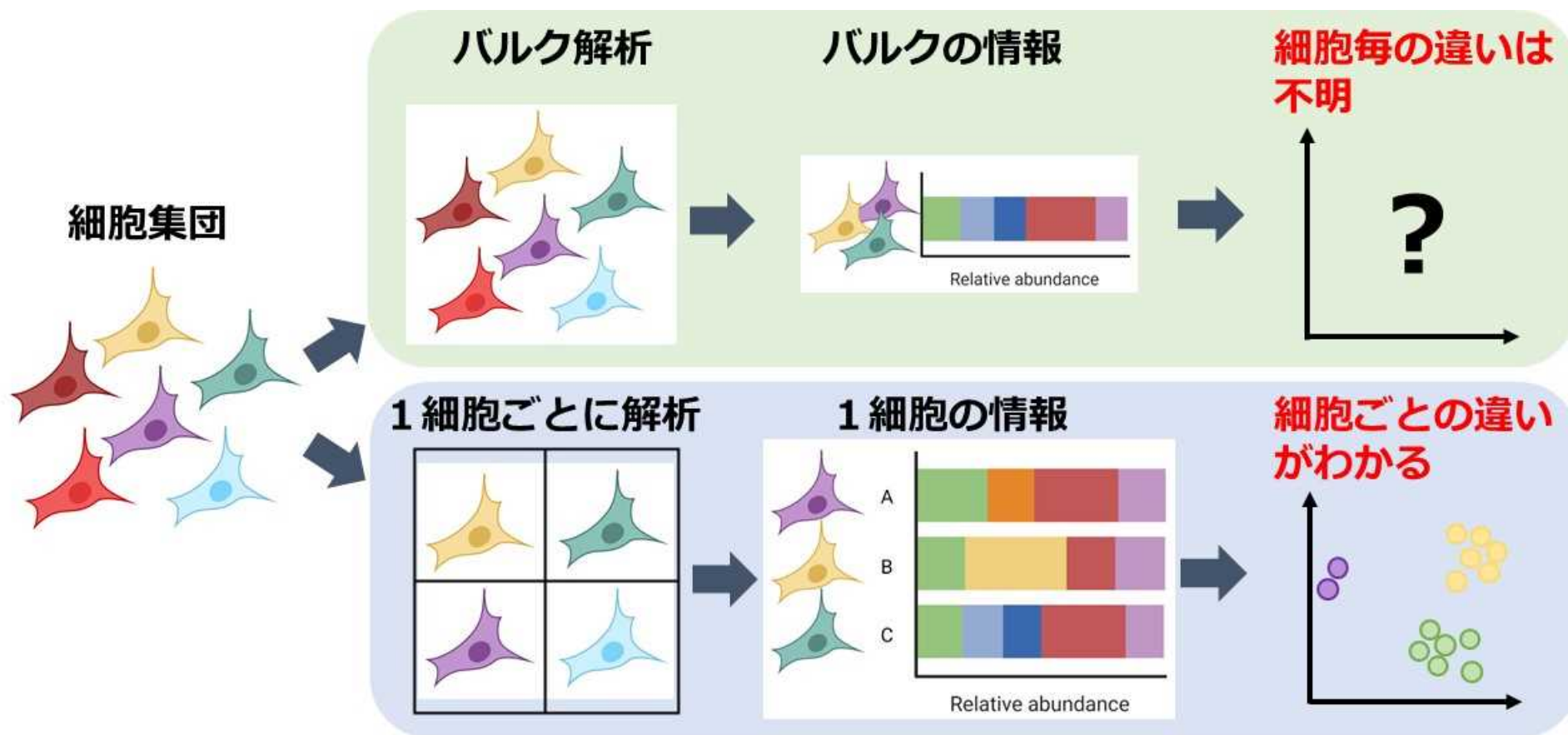
細胞型や細胞の状態（分化・脱分化、がん化、炎症、老化）で変化する



HPLC、MS、キャピラリー電気泳動、NMR、レクチンマイクロアレイなどの糖鎖解析技術が一般的に用いられていた。

→バルクの糖鎖情報のみを取得可能であり、1細胞ごとの糖鎖を解析することができな
かった。また遺伝子との同時解析ができな
かった。

1 細胞解析の利点



結果が平均化されない

1. 細胞集団内の不均一性の解析 (細胞亜集団の同定)
2. 細胞種毎の細胞応答
3. 希少細胞のマーカ探索

DNAバーコード標識レクチンの開発

糖鎖認識プローブ
(レクチン)

DNAバーコード



糖鎖情報をPCRで増幅し、発展目覚ましい様々な遺伝子解析装置で解析可能となる

1 細胞糖鎖RNA同時プロファイリング技術 (scGR-seq)

41種のDNAバーコード標識レクチンを細胞に反応

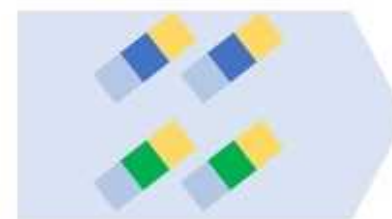
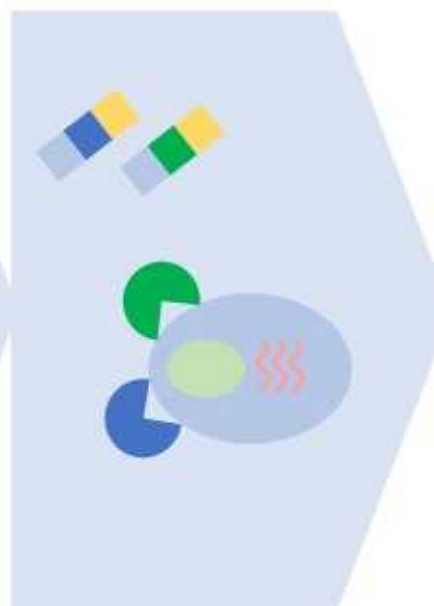
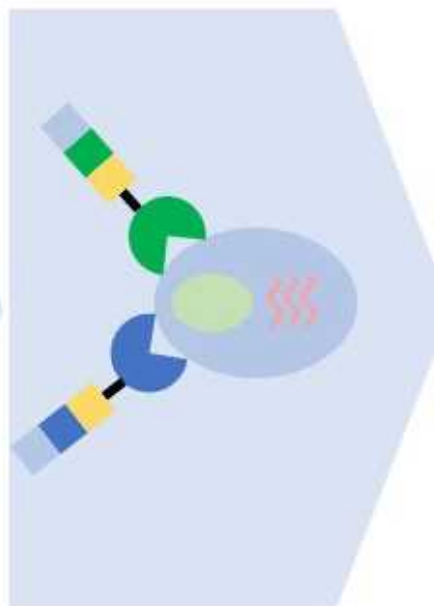
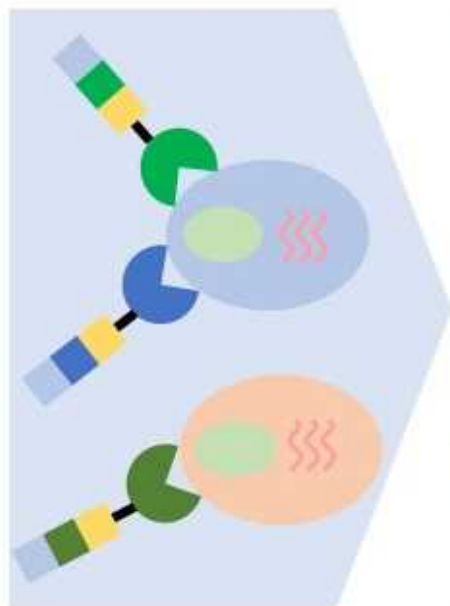
1細胞毎に分離

光照射でDNAバーコードを遊離

1細胞糖鎖解析
(scGlycan-seq)

1細胞遺伝子解析
(scRNA-seq)

scGR-seq

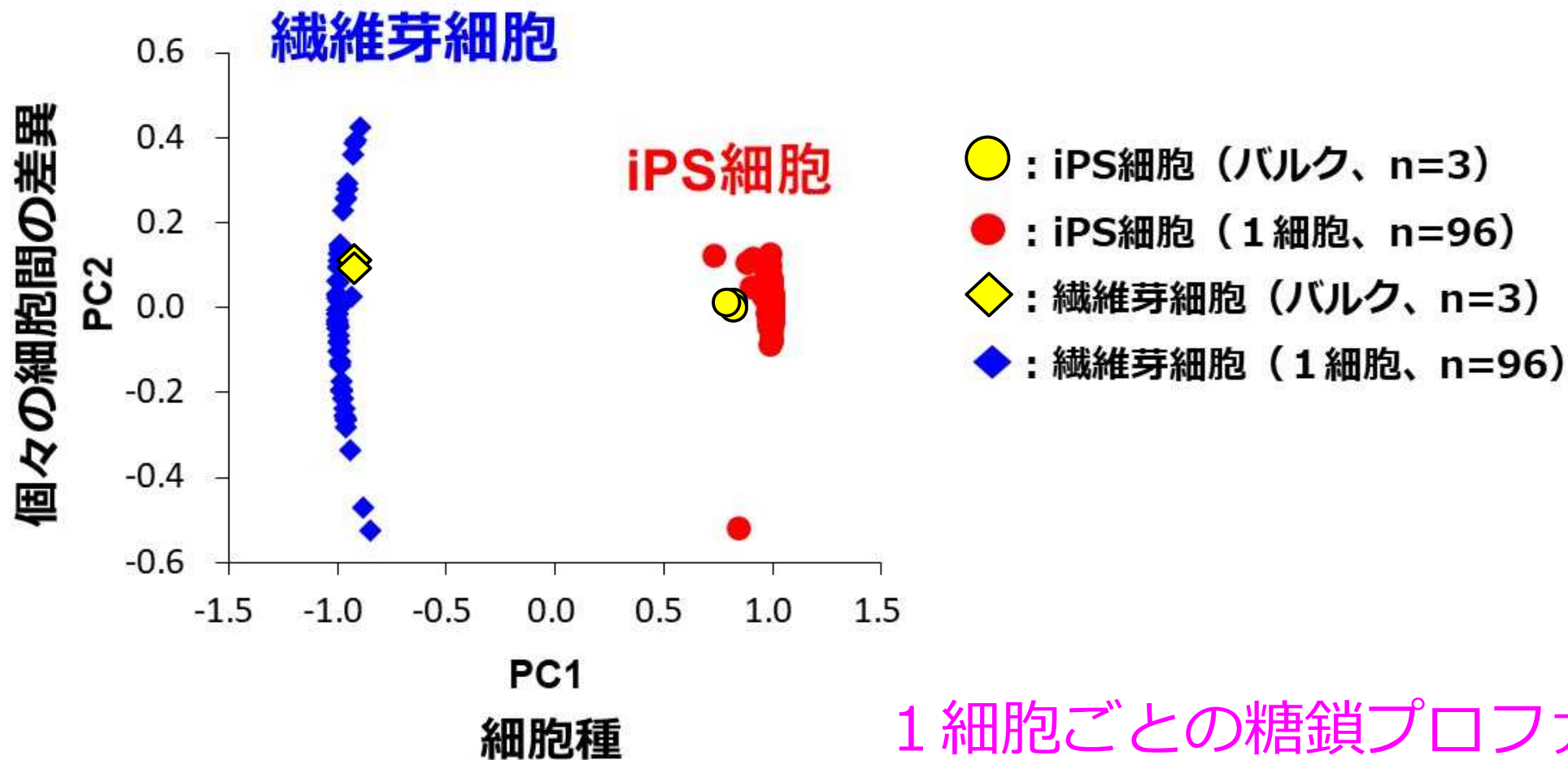


1細胞ごとの糖鎖とRNAを同時プロファイルできる

バルクと1細胞のGlycan-seq

(iPS細胞 vs 繊維芽細胞)

主成分分析(PCA)



1細胞ごとの糖鎖プロファイルの違いがわかる

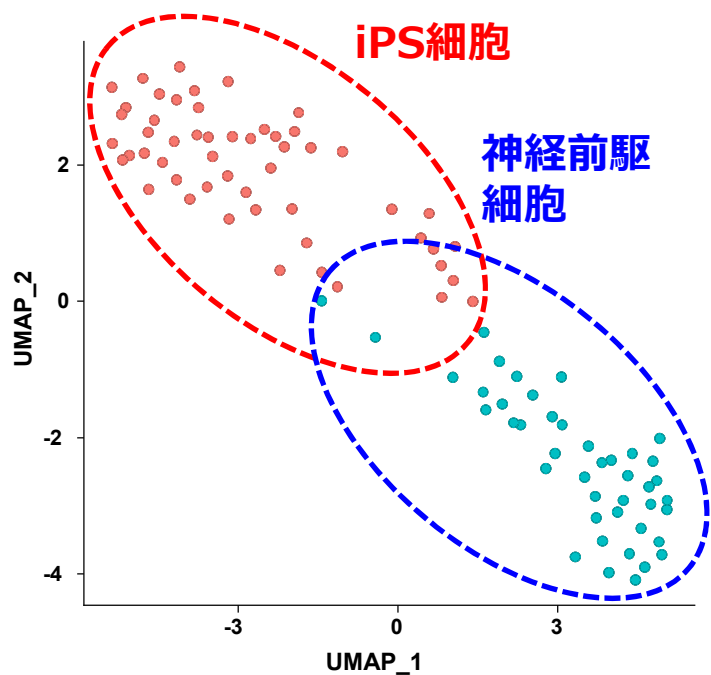
scGR-seqによる細胞の識別

(iPS細胞 vs iPS細胞由来神経前駆細胞)

Minoshima et al. iScience 2021

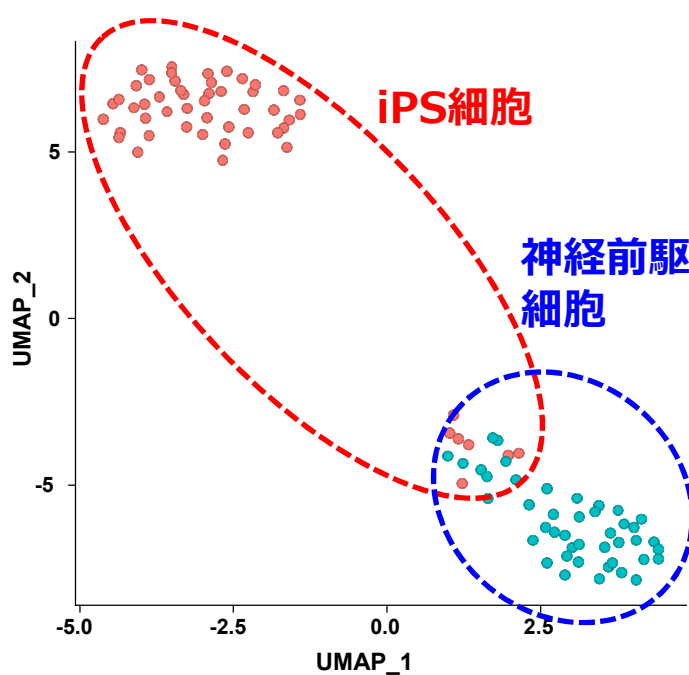
A

mRNA



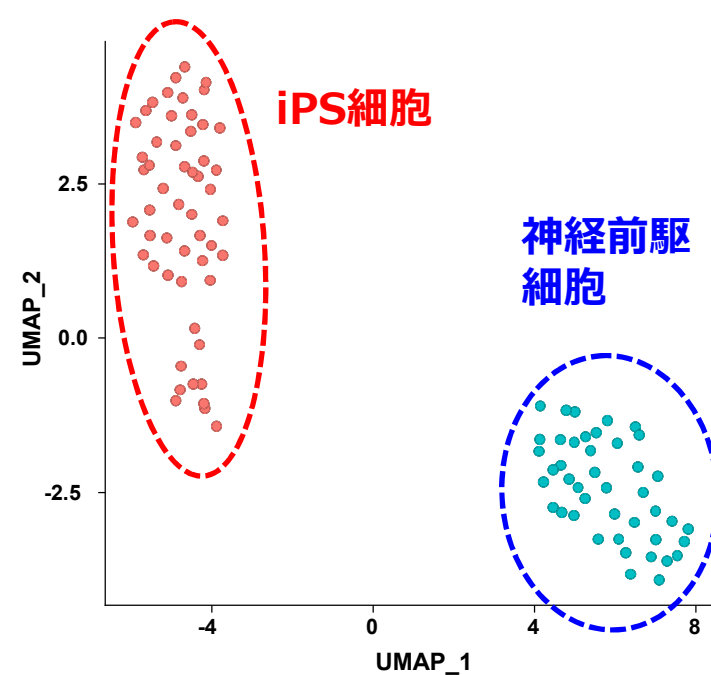
B

糖鎖



C

mRNA+糖鎖



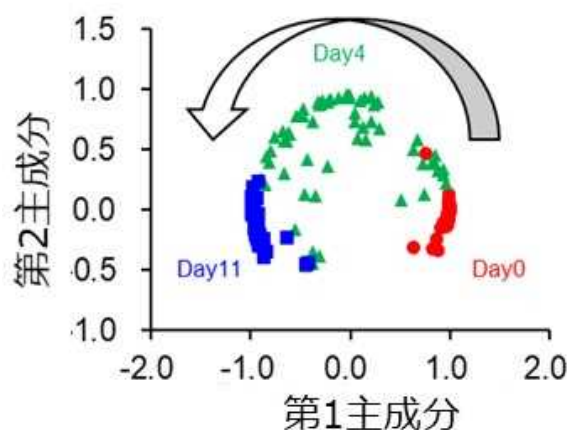
mRNAのみ、糖鎖のみと比べて、mRNAと糖鎖の2つの情報の組み合わせにより2種の細胞が正確に分離

scGlycan-seq

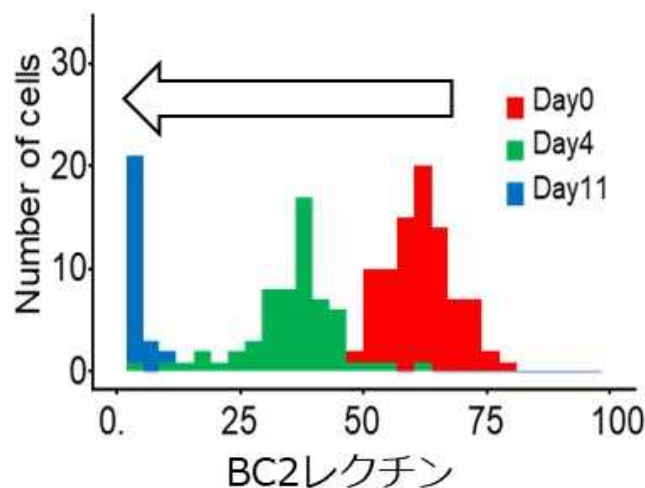
(iPS細胞→iPS細胞由来神経前駆細胞)



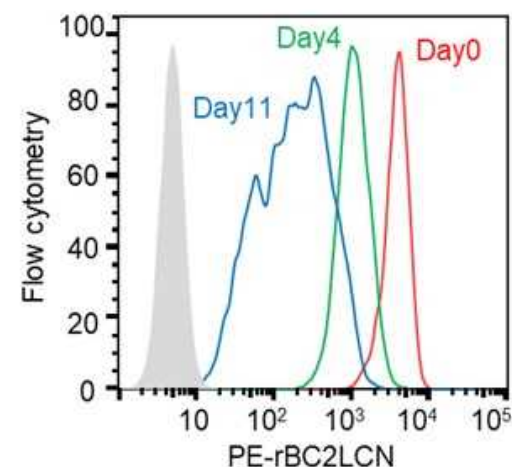
PCA plot (主成分分析)



scGlycan-seq
(BC2レクチン)

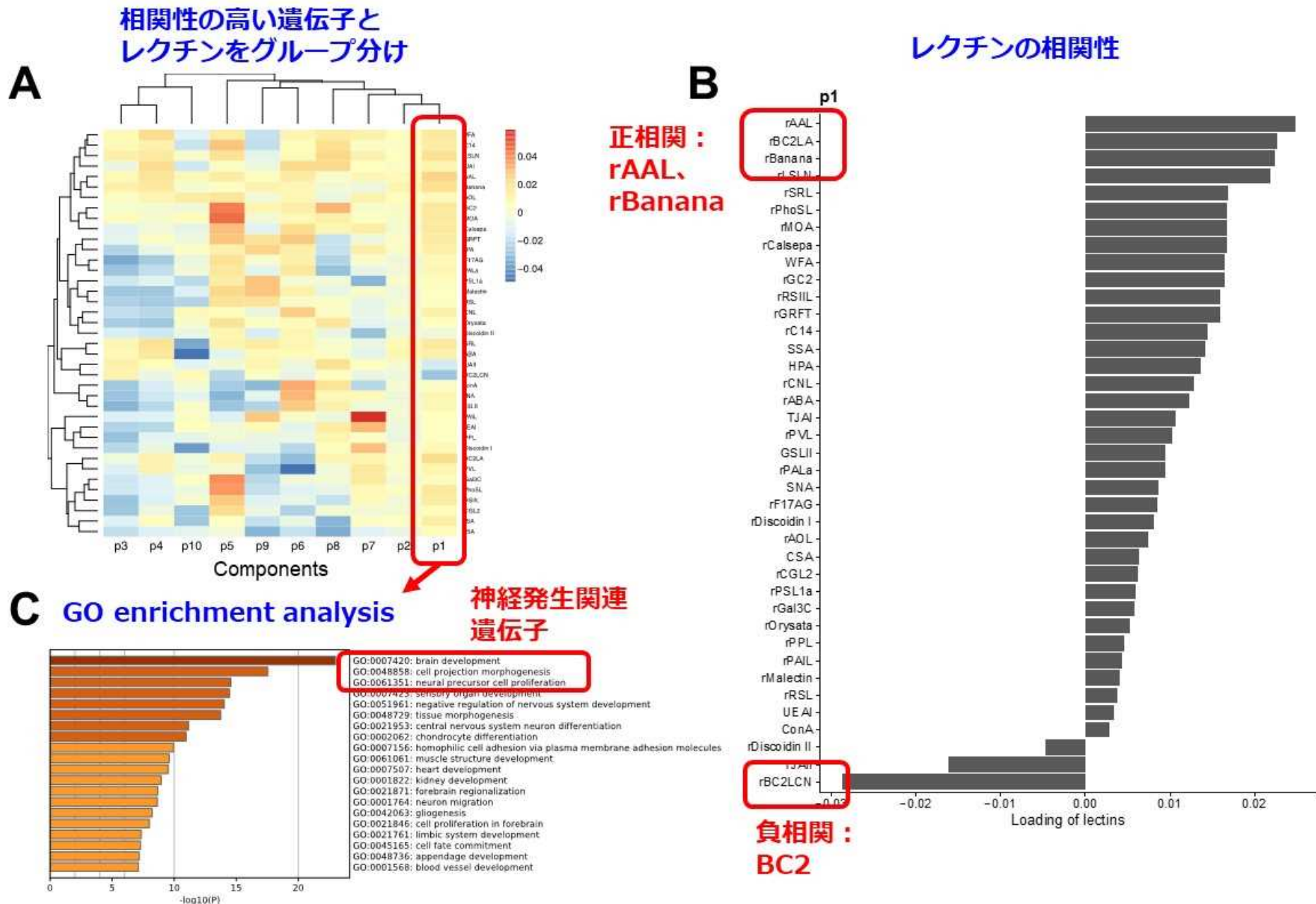


フローサイトメトリー
(BC2レクチン)

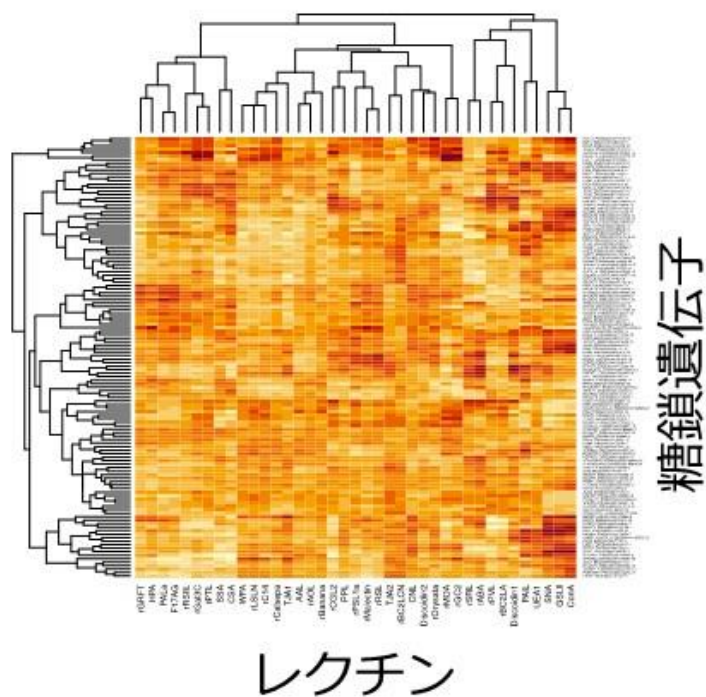


1 細胞ごとの糖鎖プロファイルの変化を定量的に解析できる

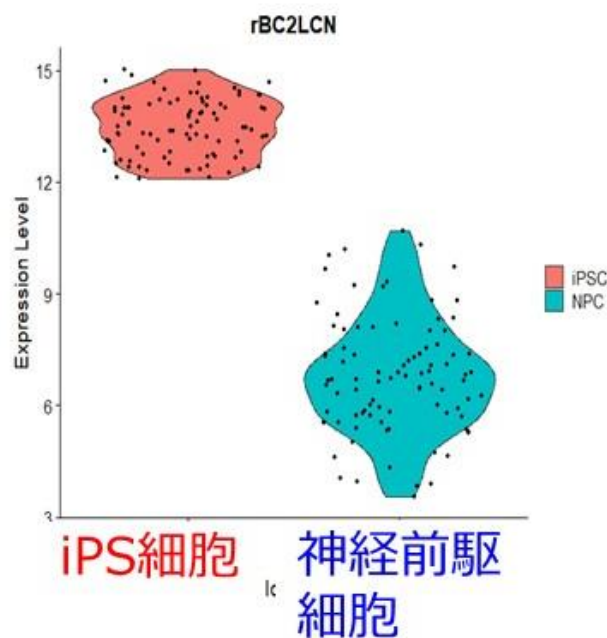
遺伝子群とレクチン群の相関解析



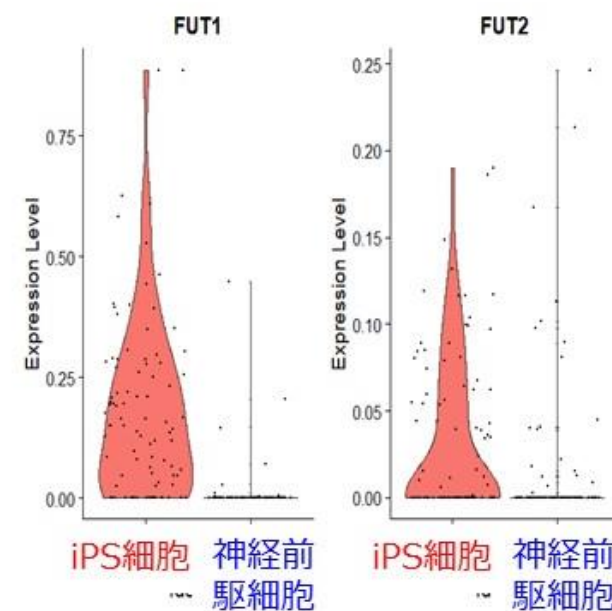
1 細胞ごとのレクチンの反応性と糖鎖遺伝子発現解析



α 1,2-フコース結合性
レクチン (BC2)



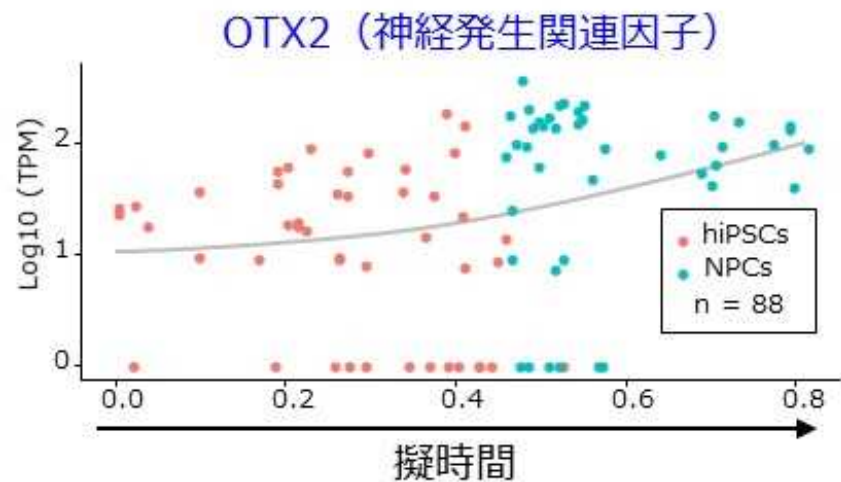
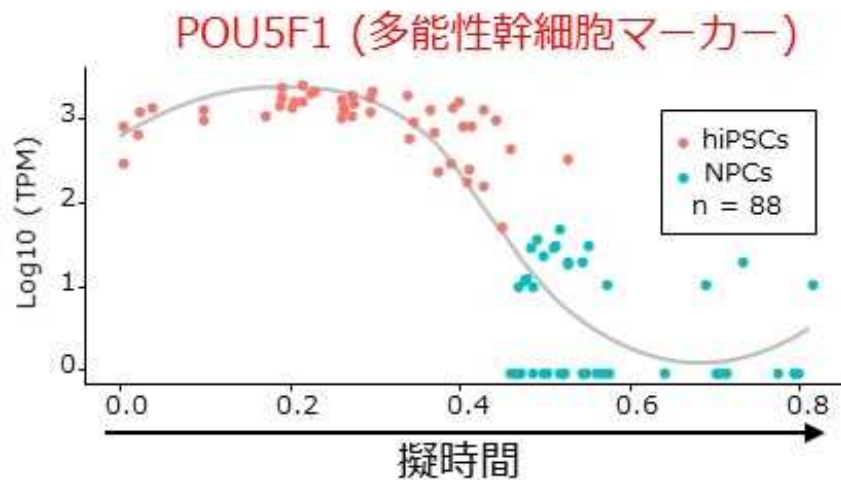
α 1,2-フコース転移酵素



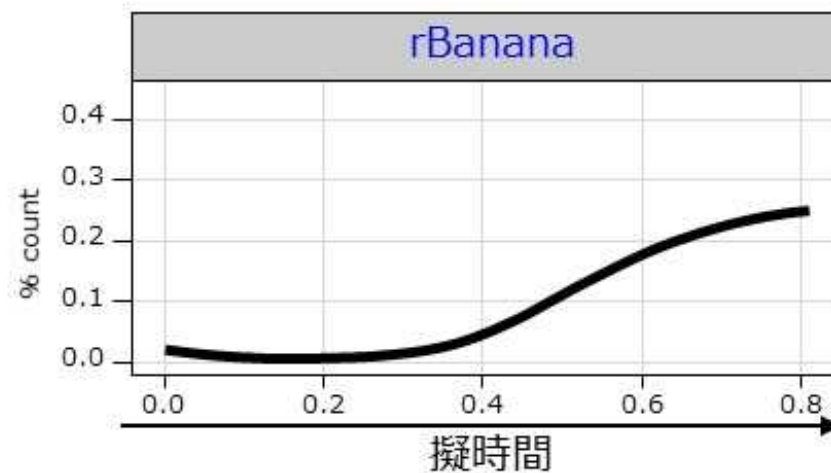
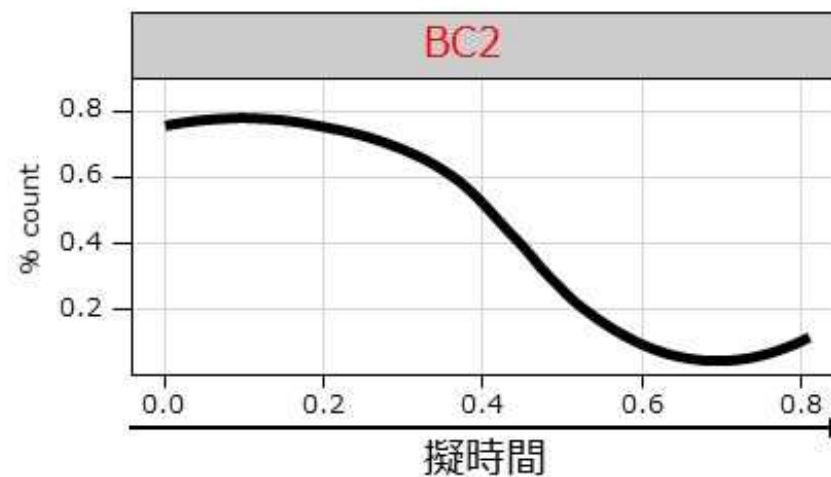
糖鎖遺伝子発現とレクチン反応性から個々の細胞の糖鎖をより正確に解析できる

scGR-seqによる擬時間解析 (遺伝子とレクチン)

RNA



レクチン



遺伝子発現の変化と相関するレクチンを探索できる

未分化・分化細胞糖鎖マーカープローブの同定

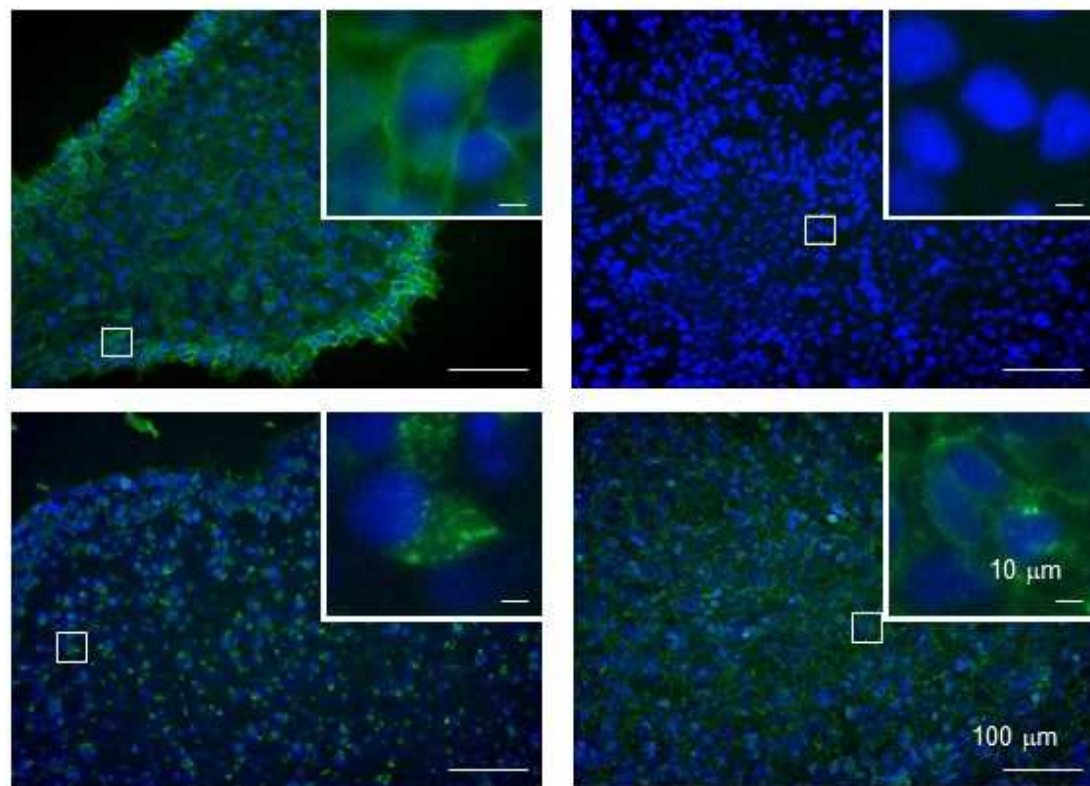
レクチン染色

iPS細胞

神経前駆細胞

α 1,2フコース結合性
BC2
(既知のiPS細胞マーカー
プローブ)

マンノース結合性
rBanana
(新たな神経幹細胞マーカー
プローブ候補)



Green: lectin staining, blue: nuclear staining.

細胞糖鎖マーカープローブの同定が可能

- 従来技術では不可能であった、1細胞ごとの糖鎖と遺伝子を同時解析することが可能となった。
- 本技術の適用により、1細胞ごとの糖鎖情報の取得ができるため、少数細胞（CTC、がん幹細胞等）の糖鎖マーカークの探索や、糖鎖-受容体ネットワークの解析が可能である。

想定される用途

- 本技術の特徴を活かし、腫瘍組織などに適用することで、がん幹細胞の糖鎖マーカの探索が期待できる。
- さらに血中循環腫瘍細胞などの糖鎖マーカの探索も可能である。
- また、微生物叢など他の生物の糖鎖マーカ探索に展開することも可能である
(Oinam et al. ISME Commun 2022)。

実用化に向けた課題

- iPS細胞、iPS細胞由来神経前駆細胞、繊維芽細胞、各種細胞株の実施例を取得した。
- 実用化に向けて、本技術の高スループット化を進めていく。
- 腫瘍や脳等の各種組織、血中循環腫瘍細胞（CTC）の実施例を取得していく。

企業への期待

- 新たな創薬標的探索を目指す製薬企業や診断薬メーカーとの連携を希望。
- がん幹細胞等の希少細胞の糖鎖創薬標的を開発中の企業、血中循環腫瘍細胞や胎児由来赤血球を用いた診断技術分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 糖鎖を解析する方法
- 出願番号 : PCT/JP2021/010385
- 出願人 : 国立研究開発法人産業技術総合研究所
- 発明者 : 舘野浩章

本技術に興味を持たれた方は一度、お声がけください

お問い合わせ先（必須）

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

生命工学領域 研究戦略部

イノベーションコーディネータ

新間 陽一

TEL: 029-861-6706

e-mail: life-liaison-ml@aist.go.jp