

SCIPPIO

BIOSCIENCE

Paris Brain Institute
ICM

アプリケーション：脳オルガノイドの分類

Benjamin Galet¹, Clément Daube¹, Sara Majello², Damien Ulveling², Azadeh Saffarian², Stanislas Lipin², Barbara André², Jun Komatsu², Philippe Ravassard¹.

¹Paris Brain Institute, Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne University, Hospital Pitié-Salpêtrière, F-75013 Paris, France. ²Scipio bioscience, Paris Santé Cochin, Paris, France.

Nature of the sample

脳オルガノイドは、3次元培養で自己組織化する幹細胞由来の神経細胞組織であり、ヒトの脳の疾患、発生、進化を研究するための優れたモデルとして使用されています。脳オルガノイドのシングルセルプロファイリングにより、ヒトの脳の複雑さとそのすべての異なる細胞タイプについて、より理解が深められます。

Methodology

8ヶ月齢のヒト由来大脳皮質オルガノイドをパイプラインで解離した後、細胞生存率マーカーを用いてFACSソーティングを行い、シングルセル懸濁液を得ました。

解離した細胞をAsteriaシングルセルRNA-Seqキットで処理し、mRNAキャプチャビーズと結合させることができました。



図1. A. AsteriaシングルセルRNA-Seqキット。B. 結合した解離オルガノイド細胞（白）とmRNAキャプチャビーズ（茶色）

ハイドロゲル溶液のゲル化後、細胞を溶解することで、mRNAは細胞と結合したビーズによってキャプチャされます。ビーズの回収後、mRNAを逆転写し、PCRで増幅した後、ライブラリに調製しシーケンシングを行いました。

Resulting Datasets

生シーケンシングデータをCytonautシングルセル解析ソフトウェアで解析しました。リードのアライメント、重複の除去、アサインメント後、カウントマトリックスが生成されました。

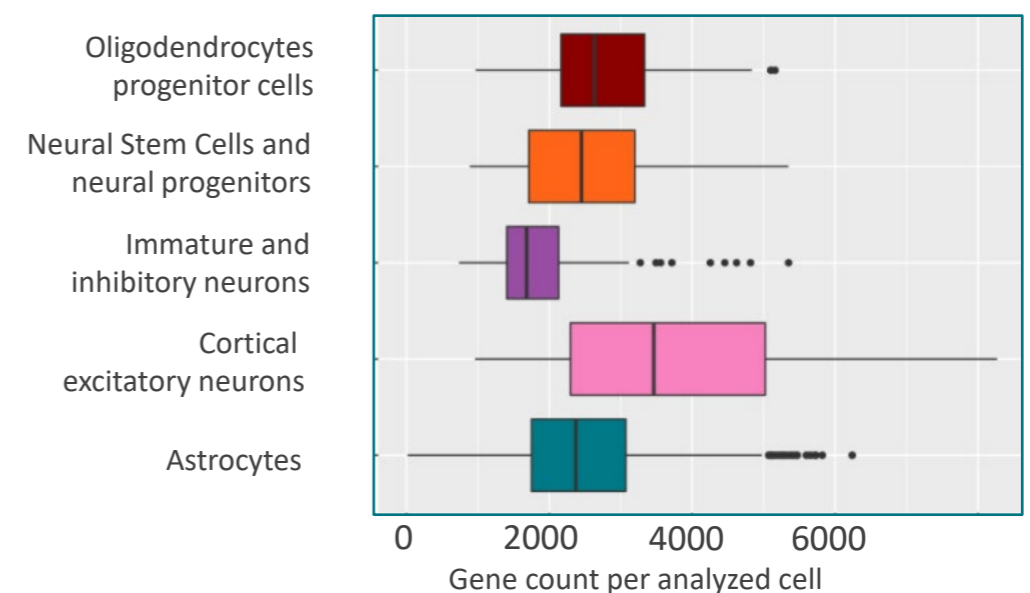


図2. 解離し、キャプチャされたオルガノイド細胞の遺伝子の多様性。アノテーション解析で得られた細胞集団は、脳オルガノイドに期待される細胞タイプと一致し、細胞クラスターはAllen Brain Atlasで参照されているものと一致しました。

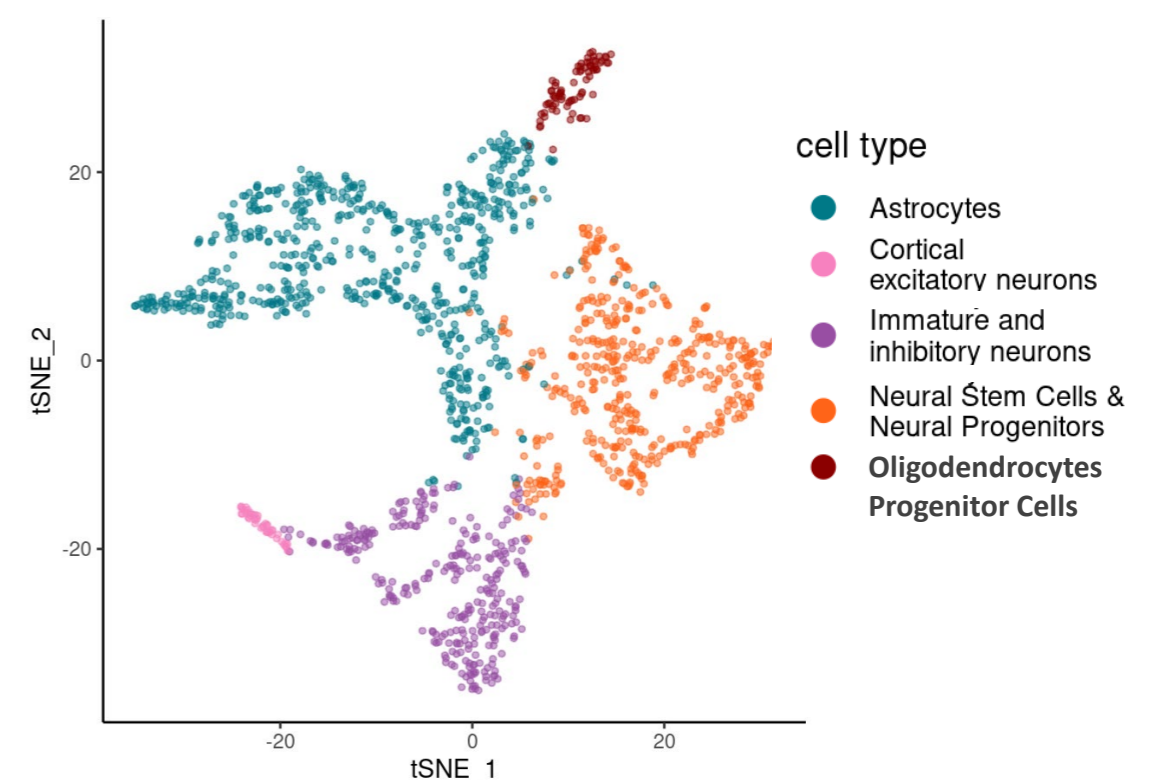


図3. 細胞の種類ごとに色分けされたヒト脳オルガノイド解離細胞の t-SNE による可視化。

SCIPPIO
BIOSCIENCE

PRIMETECH
CORPORATION

お問い合わせ：
プライムテック株式会社
www.primetech.co.jp

ライフサイエンス事業部 バイオ試薬ソリューション部
東京都文京区小石川1-3-25 小石川大園ビル2F
Phone : 03-3816-0851 (代表) Fax : 03-3814-5080
E-mail : reagents@primetech.co.jp

