

## 審査の結果の要旨

氏名 村上 達哉

本研究は 1600 以上からなる水溶性化合物ライブラリの網羅的探索を通じて新しい透明化手法を提唱し、各種生体組織を透明にした上で一細胞解像度のイメージングを行っている。加え、マウス脳内に含まれるすべての細胞核中心を漏れなく検出することで一細胞解像度のマウス脳アトラスを構築し、発生生物学や薬理学への応用を行っている。本研究を通じて下記に示す結果が得られた。

1. 組織透明化の化学的な理解を深めるために、1600 以上の水溶性化合物の脱脂能、脱色能、脱炭能、膨潤能、屈折率からなる 5 つの透明化パラメータを定量的に評価した。組織透明化の物理的なメカニズムに基づいたこれらのスクリーニングにより、それぞれのパラメータの pH 依存性、官能基依存性、物性依存性を解析して得られた結果を基に透明化試薬として有用な化合物を選別した。
2. スクリーニングされた化合物の組織中での透明化パフォーマンスや蛍光タンパク質保持能を検討することで、数種類の透明化試薬からなる透明化プロトコルを作成した。これらの透明化プロトコルが、マウスの組織、骨を含めたマウス全身、マーモセット全脳およびヒト組織に対しても適応可能であることを示した。既存の手法と比較することを通じて提唱された透明化試薬の有用性を示しており、実際に様々な組織を透明化しイメージングをすることでその応用を行った。
3. 提唱された透明化プロトコルの内、組織を膨潤させかつ透明にする CUBIC-X と呼ばれるプロトコルを用いることでマウス脳を体積比で約 10 倍ほど膨潤させた。得られた脳サンプルを自作ライトシート顕微鏡を用いて観察することですべての細胞を漏れなく観察するイメージング手法を提唱し、自作自動細胞検出アルゴリズムを用いて脳内のすべての細胞核中心を検出し、一細胞解像度脳アトラス「CUBIC-Atlas」を作成した。
4. CUBIC-Atlas を用いて、様々な発達段階のマウス脳を解析することで 1 週齢から 3 週齢にかけて大脳皮質の特定の領域で細胞数が有意に減少することを同定した。また NMDA 受容体アンタゴニストを Arc-dVenus マウスに投与することで細胞活動を全脳レベルで解析し、海馬歯状回において機能的に異なる複数の細胞群を発見した。

以上、本論文は透明化の化学的原理を理解する上で多くの知見を与えた上、全脳全細胞解析の基盤技術を作成した。本研究はシステムレベルでの生体組織の理解を大きく促進すると期待され、学位の授与に値するものと考えられる。