

【基盤研究(S)】

理工系 (総合理工)



研究課題名 マイクロ流体アプローチによる1細胞トランスクリプトーム解析とその応用展開

東京大学・生産技術研究所・教授

ふじい てるお
藤井 輝夫

研究課題番号：16H06328 研究者番号：30251474

研究分野：総合理工

キーワード：ゲノム工学、1細胞解析、トランスクリプトーム解析

【研究の背景・目的】

同一の遺伝的背景を有する細胞集団において、個々の細胞における遺伝子発現には大きなばらつきがあることが指摘されている。次世代シーケンサの登場によって、比較的安価にかつ大量のシーケンスデータが得られるようになったことと相俟って、単一細胞の遺伝子発現を網羅的に解析する1細胞トランスクリプトームが可能になった。しかし、これまでの1細胞トランスクリプトーム解析を実現する手法に関しては、主として少数の単一細胞を取り扱い、その解析の高感度化を目指す報告が主流であった。細胞集団における不均一性を把握するためには多数の単一細胞を同時に解析できるシステムの開発が必要である。例えば、複雑な組織サンプルについて1細胞単位でなおかつ高スループットに遺伝子発現解析ができる方法の確立が望まれるようになった。本研究では、研究代表者らのグループで研究を進めてきたマイクロ流体アプローチによる単一細胞捕捉・解析デバイスと研究分担者らが有する解析手法とを組み合わせ、それらをより一層発展させることによって、10,000個規模の1細胞トランスクリプトーム解析を可能にする超並列1細胞トランスクリプトーム解析システムの確立を目指す。

【研究の方法】

多数の単一細胞操作・解析を行うことが可能なエレクトロアクティブマイクロウェルアレイ (Electroactive Microwell Array (EMA)) とトランスクリプトーム解析が可能な Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) 法とを、それぞれ高度化して、融合することにより、単一細胞トランスクリプト

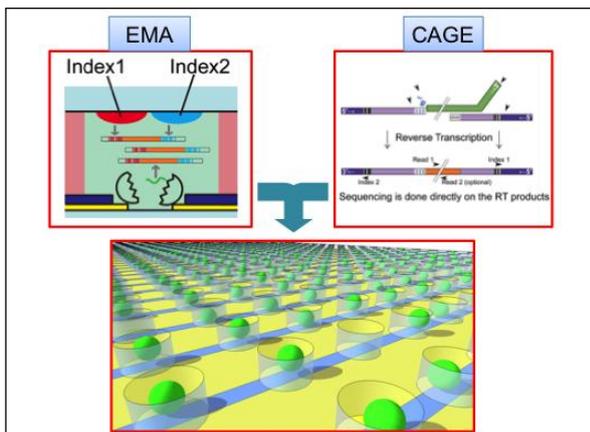


図1 1細胞トランスクリプトーム解析

ーム解析法を実現する。具体的には、並列で単一細胞操作・解析を行うことが可能なEMAの内部に各細胞を識別するためのindex配列を予め導入し、少量サンプルでのトランスクリプトーム解析が可能なpicoCAGE法を行うことにより、超並列1細胞トランスクリプトーム解析システムを実現する。

【期待される成果と意義】

本研究では、マイクロ流体アプローチとCAGE法とを組み合わせることによって、10,000個規模の細胞数を一括して扱うことが可能となるだけでなく、ワンステップ処理で細胞毎に得られるcDNAにindex配列を付加したものを直接シーケンスする方法を考えるため、増幅反応によるバイアスのない解析結果を得ることができる。これにより10,000個規模の単一細胞の中にもどのようなmRNAがどれだけ存在するのかが見ることが可能となり、細胞毎の遺伝子発現パターンの不均一性を明らかにすることができる。その際、液滴系のような確率的に細胞を区画化して識別する手法とは異なり、本手法では個々の細胞を各マイクロウェル内に捕捉するため、解析結果と個々の細胞とが確実に照合可能である。したがって、例えば捕捉した細胞の形態と遺伝子発現パターンとの対応関係等を明らかにすることが可能となる。本手法を確立することにより、子宮頸癌における遺伝子発現パターンとHPVの感染との対応関係のみならず、他の様々な疾患メカニズムの解明に大きく資することが期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Kim, S. H. and Fujii, T., "Efficient analysis of a small number of cancer cells at the single-cell level using electroactive double-well array," *Lab on a Chip* **16**, pp. 2440 - 2449 (2016), selected as the outside front cover of the issue.
- Plessy, C. *et al.*, "Linking promoters to functional transcripts in small samples with nanoCAGE and CAGEscan", *Nature Methods* **7**, pp. 528-534 (2010).

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度 136,600千円

【ホームページ等】

<http://www.microfluidics.iis.u-tokyo.ac.jp/>
tfujii@iis.u-tokyo.ac.jp