

プログラム名：セレンディピティの計画的創出による新価値創造

PM 名：合田 圭介

プロジェクト名：化学的 1 細胞遺伝子解析技術の開発

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成果)

平成 2 7 年度

研究開発課題名：

化学的 1 細胞遺伝子解析技術の開発

研究開発機関名：

東京大学

研究開発責任者

岡本 晃充

I 当該年度における計画と成果

1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

新奇機能を有しているとおぼしき細胞を、エピゲノム・トランスクリプトームレベルで視覚的に効率よく拾い上げる化学的方法を開発する。新奇機能を示す細胞を収集し、これらを機能別に標識する方法を開拓する。最終的に、これら技術の汎用化を推進し、新奇機能細胞の獲得を目指す。

当該年度では、当研究チームは、化学に立脚して、従来の遺伝子解析技術とは一線を画す独自の細胞標識技術を開発する。

2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

2-1 進捗状況

1. 細胞群の取得

順調に進捗している。特徴ある細胞群の収集の一環として、モデル系としてマウスリンパ球 **Ba/F3** 細胞およびミドリムシ *Euglena gracilis* の収集を目指した。また、新たに、1細胞解析に必要なプラットフォームとして基板上への1細胞固定・放出法を分子設計を通して開発し、さらに1細胞操作を効率的に行えるようにシステム設計した。

2. 新規細胞の標識・分取

新規のラマン標識の開発において順調に進捗している。ラマン標識は、細胞に取り込まれやすい小分子、コレステロールやグルコースなどに対して行われた。

3. 1細胞トランスクリプトーム解析

1細胞トランスクリプトーム解析に資するプローブの新規機能化について順調に進捗している。生細胞の標識・可視化に極めて重要な技術である。当該年度では特に、細胞の培地にトランスクリプトーム解析プローブ（ECHO プローブ）を与えるだけで細胞内の特定のRNAを標識する技術を開発した。

4. 1細胞エピゲノム解析

高感度化に資する **ICON** プローブの機能化について順調に進捗している。特定の箇所を解析する技術は細胞の個性を判断する重要な技術である。当該年度では特に、**ICON** プローブからのシグナルを強化する手法を開発した。

2-2 成果

1. 細胞群の取得

マウスリンパ球 **Ba/F3** 細胞およびミドリムシ *Euglena gracilis* を収集した。

新たに、1細胞解析に必要なプラットフォームとして基板上への1細胞固定・放出法を分子設計を通して開発した。ウェルサイズや光分解性ゲルなどを比較検討し、1細胞操作を光照射を用いて行える最適な系を得た。

2. 新規細胞の標識・分取

ラマン標識は、細胞に取り込まれやすいグルコースやコレステロール（図 1）、ニトロイミダゾールに対してラマン標識した分子を合成した。 $2,000\text{cm}^{-1}$ 近傍でのシグナル取得を目指すため、炭素—炭素三重結合を有効に活用した分子設計を行い、短合成段階と低コストな技法を用い、上

記構造にアルキン基を高効率に導入する製造法を構築した。

3. 1 細胞トランスクリプトーム解析

ECHO プローブの末端へ短鎖ペプチド KrRrGrKkRrE (r は D アミノ酸) もしくは RQIKWFAQNRRMKWKKF を修飾した。このプローブは、細胞の培地に加えるだけで細胞内の特定の RNA を標識できた。また、このプローブの光化学的機能として、標的の RNA の量に応じて定量的に蛍光強度が変化することを確認した。

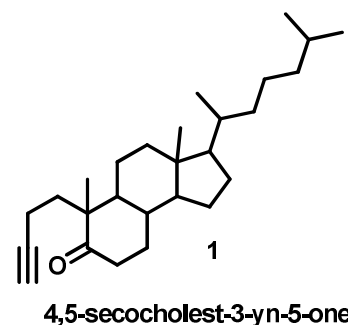


図 1. ラマン標識した合成「コレステロール」(1)

4. 1 細胞エピゲノム解析

ICON プローブの末端に対して西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) を連結した。この方法は、TSA (Tyramide Signal Amplification) 法へ展開することが可能である。ICON プローブが特定のメチルシトシンと反応した時、反応液に蛍光修飾したチラミドを加えることによって、プローブ末端の HRP によって生じたチラミドラジカルがタンパク質の Tyr 残基に結合する。特定の箇所のメチル化を当研究室ですでに開発している MeFISH 法によって観察した結果、微量な標的のメチル化に対しても鋭い蛍光が観察された。

2-3 新たな課題など

1. 細胞群の取得

特に問題点はなく順調に推移している。細胞の収集・維持は、今後も、継続的に行われる予定である。

2. 新規細胞の標識・分取

ラマン標識の取り込み効率が高くない場合がある (ラマン標識グルコース)。また、現段階の装置レベルでは高感度の検出にはシグナル強度が足りない場合がある。細胞を標的としたラマン分光法では、標的分子が局所的に濃い濃度で存在する場合に初めてシグナルが検出されるので、今後その点を強化する必要がある。

3. 1 細胞トランスクリプトーム解析

特に問題点はなく順調に推移している。

4. 1 細胞エピゲノム解析

特に問題点はなく順調に推移している。

3. アウトリーチ活動報告

2015 年 6 月 5-6 日の 2 日間にわたり、駒場リサーチキャンパス一般公開にて、岡本研究室の研究内容 (ECHO プローブと ICON プローブ) を来場者に説明した。一般公開全体で約 1,000 名が来場した。