

2023 年度年次報告書

多細胞間での時空間的相互作用の理解を目指した定量的解析基盤の創出

2019 年度採択研究代表者

若本 祐一

東京大学 大学院総合文化研究科
教授

ライブセルオミクスと細胞系譜解析によるパーシスタンスの理解と制御

主たる共同研究者:

小林 徹也 (東京大学 生産技術研究所 教授)

宮本 崇史 (筑波大学 医学医療系 助教)

研究成果の概要

我々の研究チームでは、ラマン分光を利用したオミクス推定技術、1 細胞系譜計測・解析技術、細胞摂動・操作技術を開発し、これらを用いて、表現型レベルの多様性やリモデリングを通じて実現される薬剤耐性現象である「パーシスタンス現象」の背景原理解明と抑制手法の構築につなげることを目指している。今年度は、ラマン分光を利用したオミクス推定技術の開発に関して、高次元のラマンスペクトルを用いた状態識別、オミクス推定で問題となる次元の呪いを高次元統計に基づく手法で緩和しクラスタリングなどの精度向上を実現する解析手法を完成させ、論文を投稿した (Katori, et al., submitted)。さらに環境変動に伴うオミクス状態の違いだけでなく、遺伝子欠損等の遺伝子型変化に伴う発現状態 (トランスクリプトーム) の違いもラマンスペクトルから推定できることを明らかにし、これも論文投稿した (Kamei, et al., bioRxiv)。またこれと関連して、遺伝子変異に伴うラマンスペクトル変化の背景事情を探る中で、非致死性の一遺伝子欠損が大規模な遺伝子発現プロファイルの変化を生じさせることを見出した。さらに、そこで観察された一遺伝子欠損の変化の影響の及び方は、ラマン-オミクス対応においても重要であることが分かっている遺伝子間の量比保存性と関係することも明らかにした。

がんパーシスタンスのモデル系として集中的に解析を進めている U2OS 骨肉腫細胞を用いて、様々な薬剤に対する応答動態を調べた。具体的には DNA 合成阻害剤系、mTOR 阻害剤系、代謝阻害剤系など、計 20 種を検討し、その中から最終的に 6 種を選択した。この内 4 種は、薬剤処理条件下では細胞増殖が完全に抑制されたが、薬剤を除去すると再増殖を始めた。残り 2 種については、薬剤処理条件下でもゆっくりとした細胞増殖が観察された。薬剤処理条件下での増殖能の回復は、翻訳阻害剤に晒された細菌でも観察されており、その背景で起きている共通の細胞内変化の特徴を掴むため、トランスクリプトーム解析とラマン解析の両方を進めた。さらに、長期 1 細胞タイムラプスラマン計測を実現するための簡易灌流デバイスやマイクロ流体デバイスの開発も進めた。実際、これらの測定系を用いて、U2OS 細胞の長期 1 細胞計測を実施し、薬剤投与下での応答のばらつきと、薬剤除去後の再増殖過程における、特徴的な形態・運動性の変化などを明らかにした。また、薬剤に対して耐性能を持つ細胞と持たない細胞の違いを検討するため、細胞内構造をラベルフリーで観察できる外部アポダイズド位相差顕微鏡を使った細胞内構造の解析方法の確立も進めた。その結果、内因性の biomolecular condensates の動態、Lipid droplet の成長速度や成長する過程における細胞内局在の軌跡、ミトコンドリアの分裂・融合に関するミトコンドリアごとの特徴や薬剤感受性の違いなどを見出した。さらに、最終的にパーシスタンス現象を制御するための数理手法の開発も進めた。具体的には、複雑な時系列画像データから直接細胞などの隠れ状態を推定する深層生成隠れ状態推定の手法を構築した。隠れ状態からデータが生成される生成過程に Normalizing flow を用い、さらにその学習方法を安定化させるアルゴリズムを開発した。また、細胞集団動態などの制御法を導出する確率最適制御手法の開発も進めた。

【代表的な原著論文情報】

Kamei, K.F., Okura, R., Kobayashi-Kirschvink, K.J., Katayama, Y., Wakamoto, Y. Raman spectra identify heterogeneous vancomycin resistance and transcriptomes of *Staphylococcus aureus*. bioRxiv, doi: 10.1101/2024.05.12.593718