

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

2022年度
年次報告書

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 准教授)

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。今年度の研究では、ラマン-オミクス対応が存在する背景事情について解析をさらに進めた。まず若本グループの解析により、環境条件が変わってもお互いに発現量の量比を保つ複数のグループ (Stoichiometrically-Conserved Group, SCG) が同定された。これら SCG の量比保存の中心度を定量評価すると、最も大きい SCG は中心度が大きく、その他の SCG は中心度が低いことが分かった。また量比保存の中心度が高いものほど必須遺伝子になる傾向にあること、さらに進化保存度も高いことを確認した(Kamei, *et al.*, bioRxiv)。この傾向は、大腸菌や酵母といった単細胞生物だけでなく、ヒト細胞でも共通であり、このような階層的量比保存構造があらゆる細胞種において普遍的に存在する可能性が示唆された。小林グループでは、高次元統計を用いたラマンスペクトル解析の改良手法の開発と検討を行うとともに、若本グループ・宮本グループで取得されたラット肺がん細胞に対するラマンスペクトル・トランスクリプトーム・プロテオーム・メタボロームのマルチオミクス関係の解析を進めた。新たな細胞系譜解析手法の構築も進め、若本グループでは細胞系譜から、任意の表現型の適応度地形や選択強度を定量する新たな系譜解析手法の論文を発表した(Yamauchi, *et al.*, eLife, 2022)。また、小林グループでは多細胞集団の表現型時系列からその集団に付加されたラベルを予測する注意機構ベースの深層学習手法を構築し、哺乳類着床前肺の産仔予測に応用してその有効性を示した(Tokuoka, *et al.*, npj Systems Biology and Applications, 2022)。また、細胞や個体の隠れた状態を表現型データの時系列から推定する方法として、隠れマルコフモデルに深層学習を組み合わせた手法の検討も進めた。パーシスタンスを示す細胞集団内の個々の細胞の状態変化を1細胞レベルで追跡し、かつそれらの細胞のラマンスペクトルの時系列変化を取得するための、石英ガラスのみで構築された長期細胞計測用のマイクロ流体デバイスの構築を若本グループで進めた。また、宮本グループでは、パーシスタンス細胞の挙動を詳細に検討するため、ラベルフリーで細胞内構造体を可視化することができる外部アポダイズド位相差顕微鏡法を確立した。さらに、パーシスタンスを制御する方法として、宮本グループではラパマイシンを用いた化合物誘導性二量体形成法の応用を検討した。ラパマイシンが mTORC1 の活性を抑制することが結果の解釈を困難にする可能性があるため、ラパマイシン耐性細胞株を樹立するための CRISPR-Cas9 システムをデザインし、実際にラパマイシン耐性細胞株が樹立できることを確認した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Yamauchi, S., Nozoe, T., Okura, R., Kussell, E., Wakamoto, Y. (2022) A unified framework for measuring selection on cellular lineages and traits. eLife 11:e72299.
- 2) Tokuoka, Y., Yamada, T. G., Mashiko, D., Ikeda, Z., Kobayashi, T. J., Yamagata, K., Funahashi, A. (2022) An explainable deep learning-based algorithm with an attention mechanism for predicting the live birth potential of mouse embryos. Artificial Intelligence in Medicine 134: 102432.