

細胞内の網羅的な遺伝子発現量の非破壊・迅速測定を実現するラマン計測

1. 発表者：

小林 鉦石（東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻 博士課程3年生）
若本 祐一（東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻 准教授）

2. 発表のポイント：

- ◆細胞にレーザー光を照射することで得られるラマンスペクトルと細胞内の網羅的な遺伝子発現量（トランスクリプトーム）のあいだに対応関係があることを明らかにした。
- ◆この対応関係を利用することで、細胞を破壊することなしに得られるラマンスペクトルから細胞内のトランスクリプトームの情報を取り出せることを明らかにした。
- ◆本研究成果により、トランスクリプトーム情報を非破壊・迅速・安価に取得できるとともに、「ライブセル・オミクス」の実現につながることを期待される。

3. 発表概要：

細胞内には膨大な種類の遺伝子が存在し、その多数の遺伝子の発現状態によって細胞の状態が決定されると考えられています。これまで、トランスクリプトームやプロテオームなどの網羅的な遺伝子発現状態の計測手法では、必ず細胞を破碎または溶解し、細胞内のRNAやタンパク質を取り出す必要がありました。今回、東京大学大学院総合文化研究科の若本祐一准教授、同小林鉦石大学院生らの研究グループは、細胞にレーザー光を照射した際に得られるラマンスペクトルと、同培養環境に置かれた細胞内のトランスクリプトームのあいだに密接な対応関係があることを明らかにしました。さらにこの対応関係を利用することで、わずか数秒のレーザー光照射で取得できるラマンスペクトルから、細胞を破壊することなしに、細胞内の数千種類におよぶ網羅的な遺伝子発現量を推定できることを示しました。また、この対応関係の解析によって、細胞内の全遺伝子の発現の変化が、実は低次元空間内に制限されていることも明らかにされています。このラマン-トランスクリプトーム対応を利用することで、トランスクリプトームを非破壊・迅速・安価に取得できる可能性があるとともに、生きた細胞内で起こる膨大な遺伝子発現の時間変化を理解する「ライブセル・オミクス」の実現につながることを期待されます。

4. 発表内容：

細胞内には膨大な種類の遺伝子が存在し、その多数の遺伝子の発現状態によって細胞の状態が決定されると考えられています。これまで、トランスクリプトームやプロテオームなどの網羅的な遺伝子発現状態の計測手法では、必ず細胞を破碎または溶解し、細胞内のRNAやタンパク質を取り出す必要がありました。

一方、細胞を破壊せずにその内部の網羅的な分子情報を得る手法として、ラマン分光法が注目されています。ラマン分光法とは、ある波長のレーザーを分子に当てた際、分子振動に依存してエネルギーシフトが生じた分子固有のラマン散乱光が生じることを利用し、このラマン散乱光のスペクトルを、いわば分子の指紋として標的分子を同定する手法です。しかし細胞は膨大な種類の分子から成り立っています。したがって、細胞から得られるラマンスペクトルは、多数の分子それぞれから生じるラマンスペクトルの重ね合わせとなります。この重ね合わせ

た極めて複雑なスペクトルから、細胞内部の大多数の分子の量を同定することは不可能ではないかと考えられてきました。

ラマンスペクトルから複数の標的分子の量を同定する際には、多くの場合、各分子固有のラマンスペクトル上の特徴的なピークに着目した解析が行われます。今回、本研究グループは、ラマンスペクトルのピークを直接解析するのではなく、生命科学研究でよく調べられている細胞のトランスクリプトームとラマンスペクトルの対応を計算論的に見つけるという、新たなアプローチを採用しました。

この研究ではまず、さまざまな環境条件に置かれた分裂酵母の細胞から得られるラマンスペクトルを主成分線形判別法と呼ばれる手法で次元圧縮することで、細胞が置かれていた環境条件に依存して低次元空間内で細胞のラマンスペクトルが異なるクラスターを形成することを明らかにしました。さらにこの次元圧縮されたラマンスペクトルと RNA-Seq によって取得されたトランスクリプトームとの対応関係を部分的最小二乗回帰で推定しました。得られた対応関係を元に、推定時に意図的に除外されたデータを使って、ラマンスペクトルからトランスクリプトームを推定すると、実際のトランスクリプトームのデータと高い精度で一致することを明らかにしました。統計テストにより、この高い精度の一致が偶然生じる確率は 0.04% 以下であることも示され、ラマンスペクトルとトランスクリプトームの対応関係はほぼ間違いないことが確認されています。

また、同じ方法を大腸菌にも適用し、大腸菌においてもラマンスペクトルとトランスクリプトームのあいだに対応関係があり、ラマンスペクトルからトランスクリプトームを高い精度で推定できることが示されました。

ラマンスペクトルからトランスクリプトームを予言できるためには、数千種類ある遺伝子の発現変動が、低次元空間内に制限されている必要があります。したがって今回の研究結果は、細胞内の遺伝子発現の変動が本質的には低次元であることも示唆しています。

ラマンスペクトルは、細胞へのわずか数秒のレーザー照射で得ることができます。また従来のトランスクリプトームやプロテオームなどのオミクス計測とは異なり、細胞を破壊することなしに、生細胞を対象に得ることができます。このラマン・トランスクリプトーム対応を利用したオミクス計測では、RNA やタンパク質を細胞から抽出し計測用に調製する作業も必要ありません。したがってこの対応を利用すれば、細胞のオミクス計測を、非破壊・迅速・安価に行える可能性があります。さらに、生細胞内の大規模な遺伝子発現の変化を、ラマンスペクトルを通して明らかにする「ライブセル・オミクス」の実現につながる可能性もあります。

本研究は、東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻若本研究室、同専攻太田研究室、東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻正木研究室、東京農業大学矢嶋研究室の共同研究として実施されました。本研究の一部は日本医療研究開発機構（および文部科学省）の生命動態システム科学推進拠点事業、日本学術振興会科学研究費助成事業、東京農業大学生物資源ゲノム解析センターの支援を受けて実施されました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Cell Systems*

論文タイトル：Linear Regression Links Transcriptomic Data and Cellular Raman Spectra

著者：Koseki J. Kobayashi-Kirschvink*, Hidenori Nakaoka, Arisa Oda, Ken-ichiro F. Kamei, Kazuki Noshio, Hiroko Fukushima, Yu Kanasaki, Shunsuke Yajima, Haruhiko Masaki, Kunihiro Ohta, Yuichi Wakamoto*

DOI 番号：<https://doi.org/10.1016/j.cels.2018.05.015>

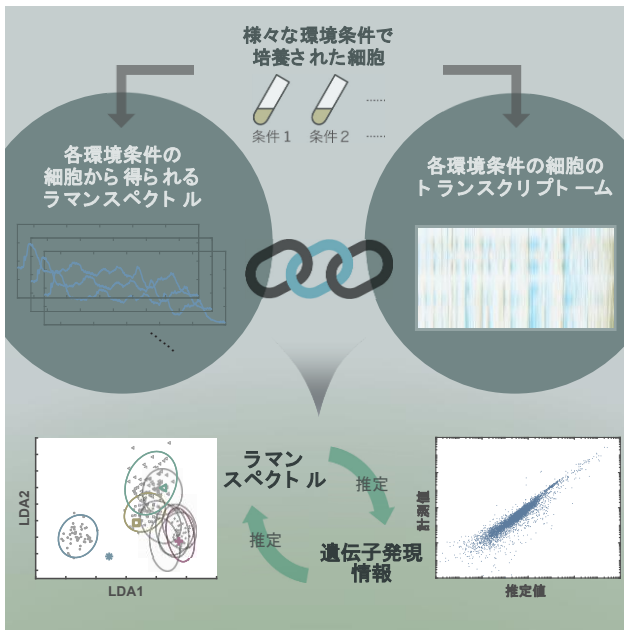
6. 問い合わせ先：

東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻相関基礎科学系
准教授 若本 祐一（わかもと ゆういち）

電話番号：03-5454-4326

Email: cwaka@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

7. 添付資料：



研究のイメージ図。様々な環境条件で得られた細胞のラマンスペクトルとトランスクリプトームのあいだに対応関係があり、これを利用してラマンスペクトルからトランスクリプトームを推定したり、逆にトランスクリプトームからラマンスペクトルを推定できるようになった。