

1 細胞解析とマイクロfluidicsの今後

ヒトの体を構成する細胞群をカタログ化する Human Cell Atlas という国際プロジェクトが進められており^[1], その中で1細胞遺伝子発現解析は中心的役割を果たしている. これまでマイクロfluidicsは解析の感度, 再現性, およびスループットの向上に大きく貢献してきた. 集積化マイクロ流路を活用して1細胞サンプルを前処理する Fluidigm 社の C1 はその代表例である. さらに, Macosko et al.^[2] および Klein et al.ら^[3]が 2015 年に報告した Drop-seq あるいは inDrop-seq と呼ばれる方法は1細胞遺伝子発現解析のスループットを桁違いに向上した. この手法はマイクロチャンネルで形成した water-in-oil 系の微小液滴を活用して, 微小液滴に1細胞とビーズを閉じ込める. 各ビーズはユニークなバーコード配列を有する逆転写プライマーで修飾されており, 微小液滴内でその逆転写プライマーと mRNA をハイブリダイゼーションさせ, cDNA を作製すると, 個々の細胞と紐づいたバーコード配列を有する cDNA が最終産物として得られる. このビーズを使ったバーコード付与法は, 汎用性が高く, 専用の流体制御系を必要としないマイクロウェルを用いた方法でも活用されている^[4].

一方で, 近年マイクロfluidicsを全く利用しない1細胞バーコード付与法が開発された. 基本的なアイデアとしては, split-pool barcoding と呼ばれる方法を活用したものである^[5, 6]. 96 プレート内の各ウェルに細胞集団を分散, 各ウェルの細胞に対してユニークなバーコード配列を付与, その後再び1つに回収するという単純操作を繰り返す. 各ウェルに入る細胞 (通常数百から数千個) はランダムに選択され, 数回の操作を繰り返すことで, 各々の細胞は組み合わせの異なるユニークなバーコード配列を獲得する. この方法は分子生物学的な手技のみで実施できるため, 今後1細胞遺伝子解析の主流になっていくと予想される.

上記状況の中, 今後の1細胞生物学においてマイクロfluidicsはどのような役割を果たしていくのであろうか. 私見ではあるが, 単純なハイスループット化を目指した研究から, マイクロfluidicsを活用したユニークな1細胞情報の計測, その遺伝子発現解析との融合へと技術開発の中心は進むと考えられる. 例えば (手前味噌で恐縮であるが), 我々のグループでは, マイクロ電気穿孔と等速電気泳動を活用して1細胞の細胞質と核を高精度分画する手法を開発し (図 1A), 細胞質 RNA と核 RNA の発現相関解析を世界で初めて可能にした^[7]. Manalis ら^[8]は微小な片持ち梁内部にマイクロチャンネルを製作し, 内部

を細胞が通過する際に生じる共振周波数の変化から1細胞の質量を計測する方法を開発し (図 1B), その1細胞質量計測と遺伝子発現解析を融合した^[9]. 近い将来これらの例に加えて, 細胞の詳細形状^[10, 11]あるいは変形能^[12]などの力学的表現型解析と遺伝子発現解析を融合した統合的な1細胞解析に関する研究報告が相次ぐと考えられる. 今後もマイクロfluidicsが開拓する新しい1細胞生物学に注視したい.

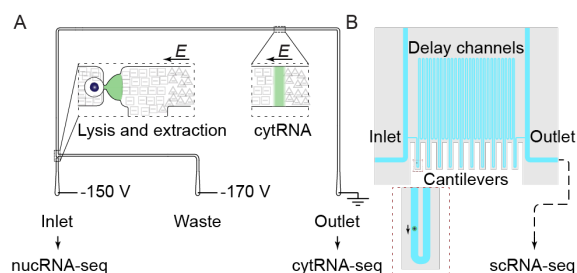


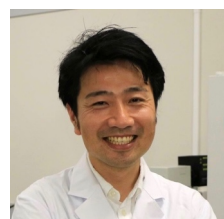
Fig.1 A) Microfluidic system for fractionation of cytoplasmic RNA versus nucleus of single cells. B) Suspended microchannel resonator with downstream collection for single-cell RNA-seq.

文献

- [1] <https://www.humancellatlas.org/>.
- [2] Macosko, E. Z.; A. Basu; R. Satija, et al., *Cell* **2015**, *161*, 1202-1214.
- [3] Klein, A. M.; L. Mazutis; I. Akartuna, et al., *Cell* **2015**, *161*, 1187-1201.
- [4] Gierahn, T. M.; M. H. Wadsworth; T. K. Hughes, et al., *Nature Methods* **2017**, *14*, 395-+.
- [5] Cao, J.; J. S. Packer; V. Ramani, et al., *Science* **2017**, *357*, 661-667.
- [6] Rosenberg, A. B.; C. M. Roco; R. A. Muscat, et al., *Science* **2018**, *360*, 176-182.
- [7] Abdelmoez, M. N.; K. Iida; Y. Oguchi, et al., *Genome Biology* **2018**, *19*, 66.
- [8] Burg, T. P.; M. Godin; S. M. Knudsen, et al., *Nature* **2007**, *446*, 1066-1069.
- [9] Kimmerling, R. J.; S. M. Prakadan; A. J. Gupta, et al., *Genome Biol* **2018**, *19*, 207.
- [10] Nitta, N.; T. Sugimura; A. Isozaki, et al., *Cell* **2018**, *175*, 266-276 e213.
- [11] Yuan, J.; J. Sheng; P. A. Sims, *Genome Biology* **2018**, *19*, 227.
- [12] Rosendahl, P.; K. Plak; A. Jacobi, et al., *Nature Methods* **2018**, *15*, 355-358.

謝辞

本記事を纏めるにあたり, 小口祐伴研究員 (理化学研究所) および Mahmoud N Abdelmoez 氏 (京都大学院) から貴重なご意見を頂いた.



新宅 博文
hirofumi.shintaku@riken.jp
理化学研究所
開拓研究本部
理研白眉チームリーダー
一言: 博士研究員募集中!