

FBI

Science View

●理化学研究所 開拓研究本部

1細胞RNA分画解読法の開発に成功

新宅マイクロ流体工学理研白眉研究チーム

チームリーダー 新宅 博文

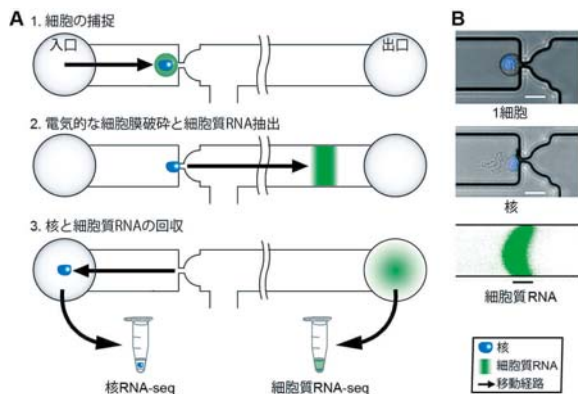


図 SINC-seqの概要

- A) 本研究で開発したSINC-seqの概要。マイクロ流体技術で1細胞を核と細胞質RNAに分画し、それぞれをRNA-seqで解析。マイクロ流路(幅50 μm、1 μmは100万分の1 m)、深さ25 μm)に設けたオリフィス構造に細胞を捕捉し、電気的な細胞膜の破砕と細胞質RNAの抽出、核との分画を可能にする。分画後はそれぞれのサンプルを回収してさまざまな分析に利用できる。
- B) 上から順に、オリフィスに捕捉した1細胞、細胞質RNA抽出後の核、等速電気泳動法により抽出された細胞質RNA。スケールバーは20 μm。

近年、「1細胞RNA-seq法」により一つの細胞の中に存在するRNAを網羅的に計数することが可能になり、細胞ごとの遺伝子発現を詳しく理解できるようになった。RNAは核内で発現した後、細胞質に移動してタンパク質に翻訳されるまでにさまざまな修飾を受ける。しかし、これまで、1細胞から核RNAと細胞質RNAに分離して、網羅的に遺伝子発現を解析する技術はなかった。

今回、理研を中心とした共同研究グループは、マイクロ流路における電場と流れを制御して、一つの細胞から核RNAと細胞質RNAを分離して、それぞれの遺伝子発現を解析できるマイクロ流体技術を基盤とする「1細胞RNA分画解読法(SINC-seq法)」を開発した。そして、本手法を用いて、一つの細胞内のRNAの局在や遺伝子発現の相関を解析できることを実証した。さらに、これらが、細胞周期やRNAスプライシング(mRNAが形成される過程でイントロン配列が削除され、エクソン配列のみのmRNAとする作用)などの生命機能と密接に関わっていることを示した。

本研究成果は、遺伝子発現制御の理解を通じて細胞生物学の研究を加速し、将来的には、遺伝子治療や創薬、微生物産業などへの応用展開が期待できる。また、本技術による分離対象は、溶液中で電荷を持つことだけであるため、細胞内のRNA以外の分子や細胞内小器官の分離・分析技術の基盤となる可能性がある。



■プロフィール

しんたく・ひろふみ 2006年京都大学大学院博士後期課程修了、博士(工学)、大阪大学大学院基礎工学研究科助教、京都大学大学院工学研究科助教などを経て、2018年4月から現職。

■コメント—微小空間における「流れ」を使って1細胞に含まれる生体分子の網羅解析を実現したい。

●理化学研究所 放射光科学研究センター

XFEL研究開発部門 ビームライン研究開発グループ イメージング開発チーム

研究員 南後 恵理子

フェムト秒スケールのタンパク質分子動画

ヒトの視覚や微生物のイオン輸送に関わる光応答タンパク質は、光をキャッチするためのレチナルを含んでおり、高効率かつ立体選択的に構造を変化させて機能を

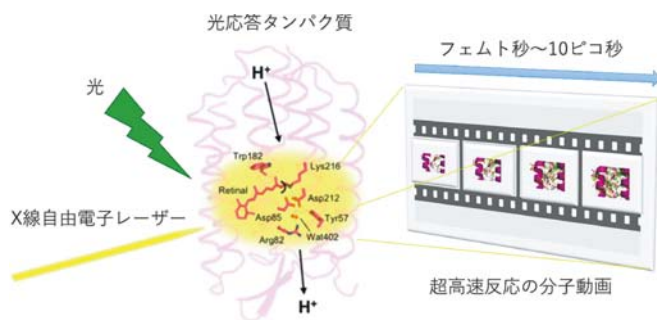


図 X線自由電子レーザーで超高速反応する過程を捉える概念図

光応答タンパク質のバクテリオロドプシンの結晶に光を照射して反応を開始させた後、フェムト秒から10ピコ秒にかけて測定を行い、時間ごとに変わっていくタンパク質の構造変化を動画撮影した。

を発現することが知られている。しかし、その光化学反応はフェムト秒(1000兆分の1秒)からピコ秒(1兆分の1秒)という超高速で起こるため、どのように反応し構造変化を起こすのかを知るのに必要な原子レベルの動きを捉えることは非常に難しかった。

今回、理研を中心とした国際共同研究グループは、米国のX線自由電子レーザー施設LCLSにて、連続フェムト秒結晶構造解析法とポンプ・プローブ法を組み合わせた手法を用いて実験を行った。レチナルを持つバクテリオロドプシンの結晶に光を照射して反応を開始させた後、フェムト秒から10ピコ秒にかけて測定を行い、時間ごとに変わっていくタンパク質の構造変化を克明に動画撮影することに成功した。これにより、1.5 Å(1000億分の15 μm)という高い空間分解能で、光化学反応の初期過程におけるメカニズムを明らかにした。これは、タンパク質が光に反応して、超高速で水分子やアミノ酸残基を含めて刻々と変化していく様子を、原子の動きまで捉えた初めての例となった。

本成果は、ヒトの視覚に関与するロドプシンや光遺伝学に用いられるチャンネルロドプシンなどにおける光化学反応の初期過程を理解する上で重要な知見となる。



■プロフィール

なんご・えりこ 東京工業大学大学院博士課程満期退学、博士(理学)。東京工業大学理学部助教、理化学研究所放射光科学総合研究センターSACLA利用技術開拓グループ研究員などを経て、2017年より現職。

■コメント—タンパク質が機能を発現する瞬間を可視化して、生命現象の詳細を明らかにしたい。

28日に理研の仙台、筑波で一般公開

理化学研究所の仙台地区(宮城県仙台市)、筑波地区(茨城県つくば市)は、7月28日に研究施設や研究室を一般に公開する。科学技術や理研の運営に関して、広く一般国民の関心と理解を深めてもらうため、研究室・施設の公開のほか、講演会、体験イベントなども開催する。

仙台地区では、小学生から参加できる実験教室「いろいろなスペクトルを観察しよう!〜光と色の不思議〜」のほか、さまざまなイベントを行う予定。筑波地区では、子供たちに大人気のマウス塗り絵やiPS細胞など研究に

必要な細胞を保存している施設を見学できる。いずれも入場無料。

◇日時 7月28日(土) 9:30~16:30(入場は16:00まで)

◇場所 仙台地区 仙台市青葉区荒巻字青葉519-1399、一般公開事務局

☎022・228・2111

筑波地区 茨城県つくば市高野台3-1-1、一般公開事務局

☎029・836・9111