

生体内の少数細胞からのリボソームプロファイリング技術

理学研究科 生命機能科学専攻 佐藤 耕世



キーワード

タンパク質へと翻訳中の mRNA の分離、リボソームシーケンス (Ribo-seq)

研究概要

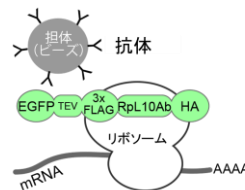
RNA-seqによるトランスクリプトーム解析は、細胞内で発現している mRNA を網羅的に解析する手法として広く用いられていますが、mRNA の量は必ずしもタンパク質の発現量を反映しないため、翻訳段階での制御を捉えられないという制約があります。リボソームプロファイリングは、リボソームに結合している mRNA を直接解析することにより、翻訳中の mRNA を高解像度で捉えることが可能な技術であり、実際のタンパク質発現の動態により近い情報が得られます。しかし従来法では、組織内に存在する希少な細胞集団など、少数細胞を対象とした解析は、量的・質的な制約により困難でした。当研究室では、複数のエピトープ・タグを付加した人工リボソームタンパク質を生体内の標的細胞に発現させ、最大3回の生化学的精製を行うことで、わずか10細胞程度から抽出された1ピコグラム以下のmRNAからでも次世代シーケンス解析用のライブラリを構築できる超微量リボソームプロファイリング法を確立しました。詳細は、特開2024-077685をご参照ください。

アピールポイント

一般的な RNA-seq では捉えることができない翻訳レベルでの変化を定量化可能。／わずか10細胞程度の小スケール試料からでも再現性の高いデータ取得が可能。／すべての工程(ライブラリー調製、シーケンス、データ解析)を自施設で一貫して実施可能。

応用分野

組織内の希少細胞、微小細胞集団など、様々な生物種の多様な課題に適用可能。



標的細胞に人工リボソームタンパク質を発現

↓
リボソーム-mRNA複合体の多段階精製↓
微量RNA (< 1 pg)からのライブラリ構築↓
次世代シーケンス → 翻訳レベルの解析